SÉRIE A N° 993
N° D'ORDRE
1017

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
de l'Université de PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Madhukumar VYAS

PREMIÈRE THÈSE

Origines du cholestérol du chyle mises en évidence par la méthode des indicateurs nucléaires

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 14 novembre 1962 devant la Commission d'examen

Mlle LE BRETON	Président
MM. P. BENOIT F. CHEVALLIER	Examinateurs

SÉRIE A N° 993
N° D'ORDRE
1017

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
de l'Université de PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Madhukumar VYAS

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

PREMIÈRE THÈSE

Origines du cholestérol du chyle mises en évidence par la méthode des indicateurs nucléaires

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 14 novembre 1962 devant la Commission d'examen

M^lle LE BRETON	Président
MM. P. BENOIT F. CHEVALLIER	Examinateurs

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen ..... ŻAMANSKY

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées
PERES	T	Mécanique des fluides et applications
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie et Cristal.
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie Vég. (Orsay)
AUGER	T	Physique quantique et Relativité
MONNIER	T	Physiologie Générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du Globe
Mlle COUSIN	T	Biologie Animale (SPCN)
CHRETIEN	T	Chimie minérale
DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
RIVIERE	T	Géologie SPCN et sédim.
GAUTHERET	T	Biologie Vég. (P.C.B.)
LUCAS R.	T	Recherches Physiques
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée.
MORAND	T	Physique Enseignement
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie Végétale (SPCN)
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie Physique
THELLIER	T	Physique du Globe
L'HERITIER	T	Biologie Générale (Orsay)
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)
PONCIN	T	Mécanique Générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des Nombres
QUELET	T	Chimie Organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay)
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories Physiques
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et Cristallog.
J.P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
MAY	T	Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie
FELDMANN	T	Biologie Végétale marine
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay)
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique
SCHWARTZ	T	Calcul diff. et Intégral
CHOUARD	T	Physiologie Végétale
MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronaut.)
BRELOT	T	Calcul diff. et intégral
NORMANT	T	Synthèse organique générale
BENARD	T	Chimie Minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques Mathématiques
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie Végétale
MARECHAL	T	Optique théorique et Appl.
KIRRMANN	T	Théories Chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutri.
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie Comp.
EHRESMANN	T	Topologie Algébrique
FRANCON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Tech. Mathém. de la Phys.
ROCH	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratig.
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET	T	Génétique (Orsay)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique Théorique
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique géné.
BRUSSET	T	Chimie systématique
M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX	T	Chimie biologique
Mme HUREL-PY		Biologie Végétale (PCB)
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)
BRUN	T	Mécan. théorique des Fluides
LEDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathém. (Agrégation)
Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J.E.	T	Chimie organique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
MICHEL A.	T	Chimie Minérale (Orsay)
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT	T	Electricité (Orsay)
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie Physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER		Physiologie comparée
CAMUS		Physiologie Vég. BMPV
CASTAING	T	Physique (Orsay)
CURIEN	T	Minéralo. et Cristallog.
MOYSE	T	Physiologie Végé. (Orsay)
NOIROT		Evolution des Etres Org.
PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay)
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie théorique
TEILLAC	T	Physique Nucl. et Radioactivité
TONNELAT	T	Biologie Physico-chim.
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART		Chimie (P.C.B.)
DODE	T	Chimie (Orsay)
FREYMANN	T	Recherches Physiques
GUINOCHET	T	Biol. Vég. SPCN (Orsay)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).
CHAPELLE	T	Physique (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)
DENY	T	Mathématiques Géné. Orsay
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides
LUCAS G.	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie Physique
BERTHELOT	T	Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)
BRICART	T	Météorologie et phys. de l'Atmosphère.
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie
FRIEDEL		Physique des Solides (Ors)
M. JULIA		Etudes des Molécluaires naturelles complexes
LENDER	T	Biol. Animale (SPCN) Orsay
MAGAT		Physico-chimie des radio-éléments
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiol. Anim. (Orsay)
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMEE	T	Physiol. Vég. BMPV (Orsay)
GUERIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay)
CHATELET M.		Chimie (P.C.B.)
JEAN	T	Physique Nucléaire (Orsay)
MATTLER	T	Physique S.P.C.N.
MICHEL L.		Phys. Théor. des Htes Energies (Orsay)
BERGERARD		Zoologie (Orsay)
BERTEIN		Electronique (Orsay)
BOUISSIERES		Chimie des Radioéléments (Orsay)
Mme COUTURE		Thermodynamique et Méc. Physique
ELLENBERGER		Géologie appli. s/le terr.
FRANC		Biol. Animale (P.C.B.)
SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay)
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie Biol. (Orsay)
BAUDOIN		Biologie animale P.C.B.
BEAUMONT		Biologie animale SPCN
BLAMONT		Géophysique Ionosphère
BOURREAU		Botanique
CURIE D.		Physique (M.G.P.)
DURAND-DELGA		Géologie
FREON	T	Chimie organique (Orsay)
HELLER		Physiologie végétale
TORTRAT		Calcul des Probabilités
CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
Mlle FOURCHOY		Biol. Végétale (SPCN)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. Analytique et Méc. céleste
Mlle VEIL		Physiologie Générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécan. Phys. et Expérim.
LACOMBE	T	Métallur. des métaux Nucl.
BROCHARD	T	Physique P.C.B. (Orsay)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Mathématiques MPC (Orsay)
MAZET	T	Mécanique générale (Orsay)
CAIRE		Géographie phys. et Géol. Dynamique
COMOLET		Mécanique des Fluides
CORABŒUF		Physiologie Animale
DELLOUE		Physique de l'exosphère
GORENFLOT		Botanique II (Orsay)
HOUILLON		Biologie Animale P.C.B.
JULLIEN J.		Chimie P.C.B.
MALGRANGE		Tech. Math. de la Phys.
OLIVIER		Antropologie
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE		Physique ENS. (Orsay)

Secrétaire Général ..... R. POULLAIN

ORIGINES DU CHOLESTÉROL DU CHYLE MISES EN ÉVIDENCE PAR LA MÉTHODE DES INDICATEURS NUCLÉAIRES

L'étude de l'absorption intestinale des aliments se présente sous deux aspects fondamentaux. Toute recherche sur ce sujet s'insère, en effet, aussi bien dans le domaine de la nutrition que dans celui de la perméabilité cellulaire. Le tube digestif, avec les reins, est un organe type dont la différenciation intéresse les mécanismes des processus de transfert. Contrairement aux progrès spectaculaires de la néphrologie, ceux qui concernent l'absorption intestinale, paraissent pauvres. Nous voyons à cela plusieurs raisons. Pour de nombreux problèmes de perméabilité, on peut définir trois compartiments : le compartiment intermédiaire est représenté par les cellules ; il est encadré par les deux autres qui sont l'un le milieu extérieur, l'autre le milieu intérieur. Dans le cas des reins, le milieu intérieur est parfaitement défini, le compartiment intermédiaire fort complexe de par la multiplicité des types cellulaires et de leur organisation ; la constitution du milieu extérieur est la résultante des seuls processus de perméabilité. Dans le cas du tube digestif, le compartiment cellulaire a une structure relativement simple. Mais la composition du milieu extérieur dépend de l'alimentation et varie au fur et à mesure de l'absorption. C'est pourquoi toute recherche, dans ce domaine, doit être menée dans des conditions nutritionnelles rigoureuses. Enfin le compartiment intérieur est représenté par le sang. Dès le déversement, dans la circulation, de molécules d'un constituant nouvellement absorbé, intervient tout le cortège des processus qui règlent son devenir. Pour pallier ces difficultés, on doit, donc, saisir le transfert du constituant des cellules épithéliales dans le milieu intérieur avant qu'il n'atteigne la circulation générale. Ceci implique des prélèvements soit du sang porte, soit du chyle. On conçoit que, d'un point de vue strictement physiologique, une telle expérimentation puisse, à priori, être critiquable. Pour des études "in vivo" ces prélèvements constituent, néanmoins, les seuls moyens d'étudier l'absorption proprement dite.

Le problème de l'origine du cholestérol du chyle qui se confond avec celui de son absorption intestinale, se heurte naturellement aux difficultés que l'on vient de signaler. Compte tenu de chacune d'entre elles, on a utilisé des rats nourris avec un régime synthétique qui a servi à toutes les études effectuées, depuis plusieurs années, dans le laboratoire de M. Chevallier. De même, la fistule du canal lymphatique abdominal (et non thoracique) étant une étape obligatoire à l'étude de l'absorption du cholestérol, les techniques opératoires, le choix parmi les animaux opérés de ceux qui sont finalement utilisés, le protocole de l'expérience effectuée sur les animaux, ont été standardisés pour que, dans la mesure du possible, les rats se trouvent dans des dispositions semblables.

Pour mettre en évidence les diverses origines possibles du cholestérol du chyle, on s'est placé dans des conditions telles que, dans les expériences indépendantes, seul soit marqué par du carbone 14, le cholestérol de transfert d'origine sérique, le cholestérol de synthèse ou encore le cholestérol alimentaire. Avant de détailler les techniques utilisées et les résultats expérimentaux, on résumera brièvement nos connaissances concernant l'absorption intestinale du cholestérol.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538125_0040

CHAPITRE I

L'ABSORPTION INTESTINALE DU CHOLESTÉROL

I - ETUDE CRITIQUE DES METHODES.

Nous ne ferons que citer celles qui consistent à étudier les variations de la cholestérolémie ou du taux du cholestérol hépatique. L'interprétation de telles variations est trop complexe pour que l'on puisse en déduire des renseignements sûrs concernant l'absorption proprement dite.

La méthode des bilans digestifs a été, pendant longtemps, la seule valable. Encore, doit-elle être employée avec précautions. En effet, on sait que le cholestérol peut-être transformé, durant son transit, en divers stérols dont le plus abondant est le coprostanol. Il est donc nécessaire de doser la totalité des stérols. La précipitation par la digitonine, entraînant cholestérol et coprostanol, serait suffisante. Mais, Waifan a montré qu'une fraction des stérols ne serait pas précipitable (86). Cette fraction serait petite (17) : d'après Wilson, elle dépend de la nature des lipides alimentaires (87). La deuxième difficulté inhérente à la méthode des bilans provient du fait que l'intestin est, lui-même, le siège d'une élimination de cholestérol. On sait, à la suite des travaux de Chevallier, qu'il faut distinguer dans cette élimination la part qui revient à une excrétion vraie de cholestérol d'origine sérique et celle qui correspond à une secrétion de cholestérol synthétisé dans la paroi intestinale (18, 19, 20). Chez les rats nourris avec une alimentation dépourvue de cholestérol, 9 mg de stérols sont retrouvés quotidiennement dans les excréments : 3 proviennent d'une excrétion, 6 d'une secrétion. On voit que l'étude d'un bilan ne peut être faite, en toute sécurité, si l'on fait absorber des quantités normales de cholestérol (5 à 10 mg par jour chez le rat). Pour des quantités très importantes (100, 200, 300 mg...) on peut simplement espérer que les variations probables des quantités excrétées et secrétées seront négligeables par rapport à la masse non absorbée.

Une autre méthode consiste à mesurer la quantité de cholestérol contenue dans la lymphe, thoracique le plus souvent, abdominale parfois, recueillie par un cathéter à demeure. Cette technique repose sur le fait, sur lequel nous reviendrons plus loin, que l'absorption des lipides et du cholestérol se fait par voie lymphatique. Dans ce type d'expérience, l'animal se trouve dans des conditions qui ne sont plus strictement physiologiques. Autant, pensons-nous, que, dans de pareils cas, la nature même des mécanismes peut ne pas être perturbée et qu'en conséquence leur étude peut-être ainsi abordée, autant l'aspect quantitatif des processus analysés risque d'être complètement faussé. Cet inconvénient a été mis en évidence à propos des fistules biliaires (2, 20). L'immobilisation de l'animal, les suites de l'anesthésie et des traumatismes opératoires, l'interruption de cycles entéroplasmatiques sont des facteurs qui entrent en ligne de compte. Si l'on fait ingérer à des rats des quantités importantes de cholestérol (100 mg) comme le firent Bollman et Flock, la quantité de cholestérol contenue dans la lymphe abdominale de 24 heures est comprise entre 18 et 43 mg (7). En comparaison des résultats obtenus par les autres méthodes, ces valeurs sont faibles, d'autant plus qu'il faudrait en retrancher la quantité de cholestérol contenue dans la lymphe en dehors de toute absorption de cholestérol alimentaire. En effet, si l'on fait ingérer des quantités très faibles de cholestérol ou si le repas n'en contient pas, dans la lymphe de 24 heures on isole, suivant les auteurs, 8 à 20 mg de cholestérol (7, 14, 30, 38, 79, 82). C'est pourquoi certains parlent de l'extra-cholestérol ; celui-ci représentant le cholestérol alimentaire absorbé qui se surajoute dans la lymphe au cholestérol que l'on trouve en l'absence de tout apport alimentaire (82, 83).

L'emploi des indicateurs nucléaires constitue une méthode complémentaire de choix pour étudier l'absorption intestinale. Elle est associée à l'une des méthodes précédentes. Dans le cas des expériences effectuées sur l'animal entier, deux protocoles ont été proposés. Le plus simple consiste à donner une quantité unique de cholestérol marqué de radioactivité spécifique connue. L'étude de la radioactivité des stérols fécaux permet de calculer, sans ambiguité, la quantité absorbée.

Cette technique a été particulièrement utilisée par Favarger ; elle ne peut être l'objet d'aucune critique de principe (32). La valeur des résultats dépend de la rigueur des conditions physiologiques de l'expérimentation : nature du régime, homogénéïté des animaux..., ces facteurs intervenant naturellement pour toutes les autres méthodes. Le deuxième protocole, employé par Chevallier, consiste à faire ingérer, pendant plusieurs semaines, un régime contenant une concentration déterminée de cholestérol radioactif (15). Dans ces cas, le cholestérol du sérum des animaux est marqué, et, en conséquence, celui éliminé par la voie intestinale. Il faut, donc, pour calculer la radioactivité du cholestérol ingéré non absorbé, connaître la radioactivité des stérols eliminés. Cette technique beaucoup plus laborieuse a l'intérêt de donner, pour un même animal, une valeur moyenne, sur 10 jours par exemple, de la quantité absorbée par jour. Elle permet, par ailleurs, de déterminer la valeur d'autres paramètres qui interviennent dans le renouvellement du cholestérol : synthèse, excrétion, transformation.

II - RESULTATS ET FACTEURS INFLUENCANT L'ABSORPTION.

Etant donné la diversité des moyens de mesure et, surtout, celle des conditions expérimentales, nous concluons, en considérant l'ensemble des résultats, à la grande digestibilité du cholestérol. Favarger administre à des rats 40 mg de cholestérol marqué par kilogramme de poids corporel ; les quantités absorbées représentent 75 pour 100 des quantités ingérées. En augmentant les valeurs de la prise, les pourcentages se réduisent, mais les quantités absorbées par jour atteignent 100, 150, 200 mg (32). Cette dernière quantité représente, soulignons-le environ le tiers du cholestérol contenu dans un rat adulte de 300 g. Chevallier obtient, chez le même animal, des résultats semblables ; les valeurs des pourcentages d'absorption étant, cependant, légèrement plus élevées (80 à 85) dans le cas d'ingestion de faibles quantités de cholestérol (15, 17). Chez l'homme, les résultats acquis ont été résumés par Cook ; on constate que le pourcentage d'absorption varie, le plus souvent, entre 50 et 75 (28). Chez les autres espèces : lapin, cobaye, chien, on trouve des coefficients du même ordre de grandeur (28). Il faut remarquer qu'aucun auteur n'a jamais signalé une absorption à 100 pour 100, et, que la capacité pour l'intestin d'absorber du cholestérol n'a pas de limite définie.

Si l'on fait ingérer, non du cholestérol libre, mais des esters de cholestérol, on constate leur hydrolyse intraluminaire (31, 63, 75, 80). Ceci conduit à penser que le cholestérol ne peut être absorbé que sous forme libre. La vitesse d'hydrolyse est plus ou moins grande selon la nature des esters. Swell pense que cette vitesse est le facteur limitant l'absorption du cholestérol des esters (75).

Le rôle de la bile dans l'absorption du cholestérol soupçonné depuis fort longtemps, a été prouvé formellement et n'est plus discuté. En l'absence de bile, Siperstein ne peut mettre en évidence la moindre trace de cholestérol radioactif dans la lymphe de rat, alors que, chez les témoins, on retrouve 10 à 20 pour 100 du cholestérol ingéré (69). Ce sont les sels biliaires présents dans la bile qui favorisent l'absorption, probablement par leur propriété d'agents tensio-actifs (38, 53, 64, 74, 76, 88). Parmi ces sels, le taurocholate est le plus efficace (38).

La présence du suc pancréatique ne paraît pas indispensable à l'absorption du cholestérol. Telle est la conclusion à laquelle aboutissent Byers et Friedman, et Tsung Min et coll. après avoir dérivé la secrétion pancréatique (12, 57, 81). Ce problème est particulièrement délicat, car on sait depuis les travaux de Klein, Le Breton et Pantaleon, puis de Swell, de Clément, que le suc pancréatique contient une cholestérolestérase (24, 33, 54, 56, 72, 73). L'activité de cet enzyme a été mise en évidence dans le pancréas, le suc pancréatique et le contenu intestinal. Son rôle dans les mécanismes de l'absorption est certain (50) ; il sera étudié plus loin. Cette conclusion contraste avec l'opinion exprimée au début de ce paragraphe.

Les acides gras ne paraissent pas indispensables pour assurer l'absorption du cholestérol (7, 62, 65). La meilleure, démonstration est dûe à Popjak qui observe, chez le lapin, l'absorption d'une suspension aqueuse de cholestérol amorphe (65). Tous les auteurs s'accordent, cependant pour reconnaître que la présence de graisses favorise l'absorption. Selon Vahouny, les acides gras sont plus actifs que les triglycérides (85). De plus, les acides insaturés seraient de meilleurs stimulants que les acides gras saturés (53, 68, 71).

Les stérols interviennent directement sur l'absorption du cholestérol. A l'aide des indicateurs nucléaires, on a pu montrer que tous les stérols quelle que soit la nature (épicholestérol, Δ^7 cholestérol, 7 déhydrocholestérol, cholestanol, coprostanol, phytostérols) sont absorbables par la paroi du tube digestif (1, 4, 27, 29, 30, 39, 40, 45, 46, 47, 49, 66, 76). Mais leur digestibilité varie dans une très large gamme. Beaucoup d'entre eux ne sont que faiblement absorbés : ce sont,

en particulier, les phytostérols et le cholestanol (30, 45, 46, 47, 66, 76). Par ailleurs, ces composés diminuent l'absorption du cholestérol ingéré simultanément (30, 49, 76). Cette constatation a conduit différents auteurs à voir dans cet effet le résultat d'une compétition des stérols au cours de leur absorption (30, 32, 42, 49, 78).

III - MECANISME DE L'ABSORPTION.

Mueller en 1916, eut le mérite de montrer, d'une part, que le cholestérol absorbé empruntait la voie lymphatique pour être déversé dans la circulation générale, et, d'autre part, que, dans la lymphe, le cholestérol était en partie estérifié (58). Depuis lors, ces deux faits ont été maintes fois confirmés. Biggs et coll. puis Chaikoff et coll. injectant du cholestérol - 4 - ^{14}C dans l'estomac de rats, porteurs d'une fistule lymphatique, montrent l'exclusivité du transport lymphatique (3, 14). C'est essentiellement dans les chylomicrons que le cholestérol exogène est véhiculé (11, 37, 51, 60). Quant à la proportion des esters de cholestérol dans la lymphe, elle varie suivant les auteurs de 0,5 à 0,8 (5, 8, 14, 82, 83). Les valeurs les plus élevées correspondent aux repas les plus riches en cholestérol. Ces faits suggérent deux remarques.

a) Tout d'abord, les auteurs utilisent généralement le mot de lymphe à la place du mot chyle. Pour nous, le chyle représente la somme des chylomicrons et de la lymphe. Leur séparation n'a été entreprise, au cours des travaux concernant l'absorption proprement dite, que dans de rares exceptions.

b) L'étude de la composition des chylomicrons qui véhiculent le cholestérol absorbé, a fait l'objet de quelques travaux (21, 48, 51, 55). Si certains trouvent que la fraction estérifiée l'emporte sur la fraction libre, Laurell et Chevallier les trouvent en proportion équivalente (21, 55). Il est très probable que la composition de ces particules dépend avant tout de la richesse relative des divers lipides absorbés simultanément, et, que "l'extracholestérol" est, surtout, sous la forme estérifiée.

L'emploi d'animaux porteurs d'une fistule lymphatique est à l'origine de deux observations riches de conséquences :

a) La première a déjà été rapportée : chez des rats à jeun ou n'ingérant que de faibles quantités de cholestérol, on isole du chyle, prélevé pendant 24 heures, 8 à 20 mg de cholestérol (7, 14, 30, 38, 79, 82). L'étude des origines de ce cholestérol peut être intéressante pour aborder celle des mécanismes de l'absorption elle-même. Cette remarque est à la base du présent travail.

b) Lorsqu'on donne du cholestérol radioactif à ingérer, la radioactivité spécifique du cholestérol du chyle est inférieure à celle du cholestérol ingéré et, aussi, du cholestérol du contenu intestinal (3, 9, 79). Ceci a conduit Swell et coll. à suggérer que le cholestérol absorbé se mélangeait avec du cholestérol synthétisé dans les cellules intestinales (79). Si cette conclusion est valable, elle a été acquise d'une façon hasardeuse. En effet, ces auteurs étudient le chyle et non les chylomicrons. De plus, on ne peut comparer directement la radioactivité spécifique du cholestérol du chyle collecté pendant plusieurs heures avec celle du cholestérol du contenu intestinal recueilli, lui, à la fin de la collection du chyle. Or, c'est sur le rapport de leur valeur que Swell et coll. se fondent pour parler d'une dilution du cholestérol alimentaire radioactif par du cholestérol de synthèse non marqué. Enfin, si dilution il y a, celle-ci peut simplement s'effectuer avec du cholestérol de transfert d'origine sérique. La paroi intestinale, comme tous les organes à l'exclusion du cerveau, est, en effet, en permanence, le siège de tels transferts (15).

Le cholestérol du chyle étant, en partie, estérifié il est normal que l'on ait cherché à savoir si le cholestérol n'était pas absorbé sous cette forme. Les travaux effectués par Favarger, Pihl, Swell, n'apportent, à notre point de vue, aucune preuve directe contre la non absorption du cholestérol estérifié (31, 63, 80, 84). Leurs résultats prouvent, néanmoins, l'intense hydrolyse qui succède à l'ingestion des esters. Récemment, Clément et coll ont pensé apporter une preuve de leur absorption (26). Remarquons que la présence permanente d'esters du cholestérol, dans le contenu intestinal et dans la paroi, est constatée par certains et non par d'autres (9, 24, 25, 26, 43, 44). De toute façon, l'opinion actuelle est que, seul, le cholestérol libre est absorbé, et que l'estérification s'effectue au cours, voire même à la fin, du transit cellulaire du cholestérol (32, 42, 79). A la base de cette conclusion sont des arguments physiologiques : hydrolyse lors de l'ingestion d'esters, absorption du cholestérol chez des animaux privés de suc pancréatique, absence, pour certains, d'esters du cholestérol dans la paroi intestinale..., et aussi des arguments stéréochimiques bien développés par Favarger (32). Nous citerons son raisonnement : "Si les stérols devaient s'estérifier pour franchir la paroi intestinale, on observerait un certain parallélisme entre leur di-

gestibilité et leur sensibilité à la cholestérolestérase. Or, le cholestanol, le sitostérol, l'épicholestérol sont tous les trois assez mal digérés, mais le cholestanol s'estérifie facilement, le sitostérol un peu moins bien et l'épicholestérol pas du tout. Fait encore plus caractéristique, des deux dérivés hydrogénés du cholestérol, le cholestanol et le coprostanol, le second paraît mieux absorbé que le premier et seul le cholestanol est sensible à la cholesterolestérase."

Si les travaux rapportés jusqu'ici permettent de se faire une idée des mécanismes intervenant dans l'absorption intestinale, le mérite revient à Glover et à ses collaborateurs d'avoir tenté d'en pénétrer l'intimité (41, 42, 43, 44). Ces auteurs étudient la composition des diverses structures des cellules épithéliales chez des animaux (cobaye, rat) à jeun et en cours d'absorption. Les stérols ingérés sont le 7-déhydrocholestérol, le cholestérol, l'ergostérol. Ces auteurs arrivent à la conclusion que ces stérols absorbés se mélangent aux stérols des structures cellulaires et que l'estérification se fait, en fin de transit, dans l'espace extracellulaire. Le mécanisme de l'absorption du cholestérol par la paroi intestinale se confondrait, donc, avec celui des transferts qui s'effectuent dans les cellules d'autres types. Mais les problèmes de la genèse des chylomicrons et de l'incorporation du cholestérol dans ces particules restent entiers.

CHAPITRE II

MÉTHODES

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

On utilise des rats mâles et adultes, de souche Wistar, recevant une alimentation synthétique pratiquement carencée en cholestérol. Un cathéter inséré dans le canal lymphatique abdominal, permet de recueillir le chyle des animaux. L'expérience comporte, d'une part, l'administration, à chaque rat, par tubage gastrique de 0,5 cm^3 d'acide oléique, et, d'autre part, l'administration d'un composé marqué au carbone 14, dont la nature varie avec chaque type d'expérience.

- Administration sous-cutanée de cholestérol - 4 - ^{14}C.

Pour étudier le rôle du cholestérol de transfert dans la formation des chylomicrons, on injecte 0,5 cm^3 (9 μ Ci) d'une solution de cholestérol 4 - ^{14}C dissous à l'aide de Tween 80 (série A_1). Les animaux de la série A_2 présentent, en plus, une fistule biliaire pour éliminer le cholestérol biliaire radioactif. Mais, pour ne pas priver ces animaux de bile, ils reçoivent celle d'un autre rat, par l'intermédiaire d'un cathéter aboutissant dans leur duodénum. Ainsi, on substitue au cholestérol biliaire radioactif du cholestérol biliaire non radioactif.

- Perfusion d'acétate de sodium 1 - ^{14}C.

Pour mettre en évidence la participation du cholestérol de synthèse dans la formation des chylomicrons, on a utilisé de l'acétate 1 - ^{14}C, précurseur du cholestérol de synthèse. Dans ce but on perfuse, par voie sous-cutanée, en 24 heures, 4 cm^3 d'une solution isotonique d'acétate 1 - ^{14}C (88 μ Ci) (série B_1). Le même protocole complémentaire, concernant la fistule biliaire et la perfusion de la bile, a été utilisé pour les rats de la série B_2.

- Ingestion de cholestérol 4 - ^{14}C et de l'oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C.

Pour les études d'absorption proprement dites, nous avons administré, par la voie buccale, du cholestérol 4 - ^{14}C (Série C_1 et C_2) et de l'oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C (série D). Le cholestérol est dissous dans l'acide oléique administré par tubage gastrique, au début de l'expérience. Les quantités de cholestérol ingérées sont de 0,5 mg (1 μCi) dans le cas du cholestérol 4 - ^{14}C et 0,25 mg (0,5 μCi) dans le cas du cholestérol sous forme d'oléate.

Les expériences durent 24 heures, à l'exception de celles de la série C_2 qui sont arrêtées au bout de 8 heures. A ce moment, l'animal est sacrifié. On prélève le sang, le foie, l'intestin grêle et le contenu de l'intestin. Des échantillons de chyle, collecté par fractions de 8 heures, on sépare les chylomicrons et la lymphe. Le cholestérol libre et estérifié est isolé de tous les échantillons biologiques ; on mesure sa radioactivité spécifique. Une série supplémentaire de rats traités comme ceux qui reçoivent le cholestérol 4 - ^{14}C par voie sous-cutanée n'a servi qu'à la détermination des quantités de cholestérol libre et estérifié dans les échantillons biologiques ; cette série est dénommée A_0.

L'ensemble des conditions expérimentales est résumé dans le tableau I.

II - TECHNIQUES PHYSIOLOGIQUES.

A - Préparations des animaux.

Les rats utilisés pour les expériences ont été élevés avec un régime synthétique au saindoux. Au moins un mois avant l'expérience, le saindoux est remplacé par de l'acide oléique. La composition du régime est la suivante (17) :

Tableau I

Conditions expérimentales

Traitement commun		- Fistule lymphatique abdominale - Ingestion de 0,5 cm³ d'acide oléique							
Nomenclature	Type d'expérience	A			B		C		D
	Série	A_0	A_1	A_2	B_1	B_2	C_1	C_2	D_1
Composé marqué	Nature		cholestérol 4 - ^{14}C		Acétate 1 - ^{14}C		cholestérol 4 - ^{14}C		oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C
	Voie d'introduction		Sous-cutanée		Perfusion		Tubage gastrique		
	Moment de l'introduction		t = 0		continu		t = 0		
Dérivation du cholestérol biliaire radioactif.		-	-	+	-	+	-		
Quantité de cholestérol ingéré.		0			0		0,5 mg		0,25 mg
Durée de l'expérience		24 H			24 H		24 H	8 H	24 H
Nombre de rats utilisés		7	5	2	3	2	3	4	3

Saccaharose	53 %
Caséine	23 %
Sels minéraux	5 %
Levure	2,5 %
Lait	4 %
Linoléate de Ca	2 %
Agar-agar vitaminé	2,5 %
Acide oléique ou saindoux	8 %

La concentration des vitamines pour 100 g de régime est :

0,2	mg.	vit. A.	2	mg.	pyridoxal
0,025	mg.	calciférol	3	mg.	amide nicotinique
30	mg.	tocophérol	0,2	mg.	acide folique
0,2	mg.	d- biotine	85	mg.	mésoinositol
0,002	mg.	vit. B_{12}	200	mg.	choline
2	mg.	aneurine	10	mg.	pantothénate de Ca
2	mg.	riboflavine			

La concentration du cholestérol du régime à l'acide oléique est de 0,3 mg pour 10 g.

B - Collection du chyle.

On choisit des rats pesant 330 ± 30 g. Après anesthésie au Nembutal (5 mg pour 100 g poids de rat), un cathéter en polyéthylène (P.E. 50 - Adams) héparinisé est inséré dans le canal lymphatique abdominal (6). Les rats sont placés dans des cages à contention. Ils sont mis à jeun pendant 24 heures, mais ils peuvent boire "ad libitum" une solution saline (0,9 % de chlorure de sodium).

Pour les expériences qui ne commencent, en fait que le lendemain de l'intervention, nous avons retenu les seuls rats pour lesquels l'écoulement lymphatique s'est effectué d'une façon satisfaisante sans trace de sang. Les animaux sont légèrement anesthésiés (2,5 mg pour 100 g) pour faciliter le tubage gastrique de 0,5 cm^3 d'acide oléique, contenant ou non le cholestérol - 4 - ^{14}C. C'est aussi, à ce moment là, que l'on fait l'injection sous-cutanée de cholestérol -4 - ^{14}C ou que l'on commence la perfusion d'acétate 1 - ^{14}C. Le chyle est recueilli dans des tubes tarés, durant 24 heures, par fractions de 8 heures à l'aide d'un collecteur de fractions. Pendant cette période, les animaux ont accès à la nourriture synthétique privée de graisses.

C - Fistule biliaire et perfusion de la bile.

Pour dériver la bile, un tube de polyéthylène (P.E. 10 Adams) est introduit dans la portion préhépatique du cholédoque. La bile est collectée comme le chyle par périodes de 8 heures. Pour la perfusion intraduodénale de la bile, dans le cas des expériences B_2, un cathéter est inséré dans la portion préduodénale du cholédoque d'un rat donneur. La bile draîne, en théorie, le suc pancréatique. L'autre extrémité du cathéter est introduite dans la partie haute du duodénum du rat en expérience. Le rat donneur est changé après 24 heures. Dans ce protocole, le débit de bile perfusée ne peut être contrôlé en permanence. Aussi, a-t-on trouvé plus sûr d'utiliser un perfuseur mécanique (expérience A_2). La bile injectée provient d'un rat donneur opéré 24 heures avant l'expérience.

D - Perfusion de l'acétate de sodium 1 - ^{14}C.

On utilise, dans ce but, un appareil qui permet de débiter 0,15 cm^3 à l'heure. Le liquide de perfusion s'écoule dans un tube en polyéthylène (P.E. 50 - Adams) dont l'extrémité est placée dans la cavité péritonéale.

Nous tenons à remercier M. Serrell qui a effectué la plupart des interventions.

E - Prélèvement des organes.

La fracture des os crâniens permet l'écoulement de plusieurs cm^3 de sang. Après coagulation, on le centrifuge à 3 500 t. p. m pendant 15 minutes. On prélève le sérum.

Pour recueillir le contenu intestinal, on commence par débarrasser l'intestin grêle de son insertion péritonéale, en le gardant fermé aux deux extrémités par des pinces. Puis, à l'aide d'une seringue de 25 cm^3, on injecte une solution de chlorure de sodium 0,9 %, par l'extrémité duodénale, l'intestin étant vertical (18). La pression du piston pour purger le liquide, permet progressivement la sortie du contenu recueilli dans un récipient. L'opération est parfois renouvelée, si le résultat de la première ne paraît pas satisfaisant. L'intestin grêle est ensuite coupé en petits morceaux. Le foie est broyé au mortier. Tous les organes, s'ils ne sont pas traités immédiatement, sont conservés dans de l'alcool éthylique absolu.

F - Séparation des chylomicrons et de la lymphe.

Après s'être assuré de la coagulation du chyle, on enlève la fibrine par filtration sur une couche de gaze. Le chyle est transféré dans des tubes à centrifuger en matière plastique. S'il le faut, on amène le volume à 10 cm^3 en ajoutant du sérum physiologique. Les tubes bien fermés, avec des bouchons métalliques, sont mis dans un rotor (40-2 Spinco modèle préparative) et centrifugés à 100 000 g pendant 45 minutes à 4 °C (48). Les chylomicrons se rassemblent à la couche supérieure, l'épaisseur de la couche dépendant de la quantité des chylomicrons.

Pour collecter la lymphe, le tube à centrifuger est perforé dans sa partie inférieure avec une aiguille. La vitesse d'entrée de l'air au niveau de la vis du bouchon permet de régler la vitesse de l'écoulement du liquide. La lymphe est recueillie dans un récipient et précipitée par l'alcool à 95°. Les chylomicrons sont entraînés par de l'eau distillée et conservés dans de l'alcool éthylique absolu. Cette méthode de séparation conduit à l'obtention d'une lymphe absolument exempte de toute trace de chylomicrons. Par contre les chylomicrons sont en suspension dans de la lymphe. Etant donné les quantités de cholestérol que contiennent ces deux milieux, on a calculé qu'au maximum un dixième du cholestérol des chylomicrons correspondait, en fait, à du cholestérol de la lymphe. On n'a pas tenu compte de cette erreur dans la suite du travail.

Dans des études préliminaires, on a aussi utilisé la technique de Burstein et Samaille (10). Elle a été abandonnée, car la radioactivité spécifique du cholestérol libre de la lymphe séparée par cette méthode est parfois supérieure à celle obtenue par centrifugation à grande vitesse. Notons que les radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié des chylomicrons, séparés par les deux méthodes, concordaient.

III - DOSAGE ET MESURE DE LA RADIOACTIVITE SPECIFIQUE DU CHOLESTEROL.

A - Schéma des manipulations.

Les techniques concernant l'extraction des lipides, la séparation chromatographique du cholestérol libre et estérifié, la saponification et l'extraction du cholestérol estérifié sont les mêmes dans toutes les expériences. A la fin de ces manipulations on recueille, dans deux fioles jaugées, le cholestérol dissout dans l'éther de pétrole ; l'une correspond au cholestérol libre, et l'autre au cholestérol estérifié. La capacité des fioles est telle que la concentration en cholestérol soit comprise entre 0, 02 et 0, 1 mg par cm^3.

a) La solution de cholestérol, correspondant au cholestérol estérifié est le plus souvent colorée en jaune orange. Cette coloration détermine un effet "quenching" lorsque des portions aliquotes sont directement utilisées pour la mesure de la radioactivité au spectromètre à scintillation liquide. Cette constatation nous a conduit à précipiter le cholestérol par la digitonine selon la technique de Sperry pour les faibles quantités (70) ou selon celle de Caminade (13) pour les quantités dépassant quelques milligrammes. La rupture du complexe est faite par la méthode de Schonheimer et Dam (67). Le cholestérol obtenu après ce traitement est dissous et transvasé dans une fiole jaugée. De celle-ci on prélève deux aliquotes pour le dosage du cholestérol et deux autres pour la mesure de la radioactivité. Le dosage du cholestérol est effectué, selon les principes de la méthode de Sperry et Webb (70). La radioactivité est mesurée à l'aide d'un spectromètre à scintillation liquide. Connaissant la teneur du cholestérol dans la fiole et sa radioactivité correspondante on calcule alors la radioactivité spécifique.

b) La solution correspondant au cholestérol libre fournie par la chromatographie est toujours claire. Dans les cas où celle-ci ne contient, comme composé radioactif, que du cholestérol 4 - ^{14}C, on prélève directement des fioles deux aliquotes pour le dosage et deux autres pour la mesure de la radioactivité. Lorsque les rats ont reçu de l'acétate 1 - ^{14}C, les lipides qui accompagnent le cholestérol libre au cours de son élution par l'acétone, sont radioactifs. Pour les éliminer le cholestérol libre est traité comme s'il s'agissait de cholestérol estérifié (saponification, extraction, précipitation, rupture du complexe).

Il faut remarquer que le dosage effectué après rupture, nécessaire au calcul de la radioactivité spécifique du cholestérol permet seulement de calculer des valeurs minimales de la concentration en cholestérol des échantillons biologiques. Normalement le rendement de la rupture étant égal ou supérieur à 90 pour 100, ces valeurs minimales sont proches des vraies valeurs. Pour déterminer celles-ci dans le cas des expériences C et D, on a prélevé, de la solution de cholestérol avant la précipitation, deux aliquotes. De plus, les échantillons fournis par une série entière de rats recevant du cholestérol par voie sous-cutanée ont été consacrés aux dosages (Série A_0).

Quel que soit le protocole suivi, les mêmes techniques de base sont utilisées. On les considèrera maintenant individuellement.

B - Isolement et dosage du cholestérol.

a) Extraction des lipides :

Les fractions de lymphe, de chylomicrons, de sérum, précipitées par l'alcool éthylique sont filtrées dans une cartouche à extraction (Durieux). Il en est de même pour le foie broyé, l'intestin grêle et le contenu intestinal. L'extraction est faite par l'alcool bouillant dans l'appareil de Kumagawa pendant 24 heures. L'alcool est ensuite évaporé sous vide à 40°C. Le résidu, repris par le choloroforme à chaud, est filtré sur un filtre d'amiante. Après évaporation du solvant, le bécher est placé pendant une nuit dans un dessicateur.

b) Chromatographie d'adsorption :

Cette technique permet de séparer les fractions du cholestérol libre et du cholestérol estérifié. Nous avons utilisé l'alumine comme adsorbant, le benzène comme solvant et l'acétone comme éluant, selon les principes de la technique de Clément et coll. (23).

La préparation de l'alumine activée est effectuée de la manière suivante. L'adsorbant (Touzart et Matignon) est passé sur des tamis de module 80 et 200 qui nous permettent d'éliminer les grains très gros et très fins. L'alumine est purifiée à l'aide d'un lavage avec six volumes d'eau et un volume d'acide nitrique à 10 %. Elle est ensuite lavée avec l'eau distillée bouillante. L'alumine deshydratée au méthanol est activée dans une étuve à 180°C pendant une nuit.

Dans le cas de la lymphe, des chylomicrons, du sérum et du contenu intestinal, on utilise une colonne à chromatographie de 13 mm de diamètre intérieur ; cinq grammes d'alumine, mis en

suspension dans du benzène (Merck), y sont versés. Une mince couche de laine de verre est déposée sur la surface de l'alumine. L'extrait lipidique dissous dans 5 cm^3 de benzène est versé dans la colonne. On lave le bécher avec 5 cm^3 de benzène deux fois de suite et, à la fin, la colonne avec 20 cm^3 du même solvant. Celui-ci s'écoule à travers la colonne en entraînant le cholestérol estérifié. La fraction libre adsorbée par l'alumine, est éluée ensuite par 25 cm^3 d'acétone (Merck). Les deux échantillons sont portés à sec.

Pour le foie et l'intestin on utilise 15 g d'alumine avec une colonne à chromatographie de 18 mm de diamètre intérieur ; la fraction estérifiée est entraînée par 105 cm^3 de benzène et la fraction libre éluée par 75 cm^3 d'acétone.

c) Saponification et extraction du cholestérol estérifié.

Le cholestérol estérifié est saponifié, suivant les quantités dans 50 ou 100 cm^3 d'alcool absolu potassique (2N). Après ébullition à reflux pendant 2 h 1/2 la solution est diluée avec de l'eau distillée pour obtenir une concentration N de potasse et 50 pour 100 d'alcool. La fraction insaponifiable est extraite par agitation avec de l'éther de pétrole dans une ampoule à décantation. On répète l'extraction cinq fois soit au total environ 300 cm^3 d'éther de pétrole. Avec quelques centimètres cubes de la cinquième extraction, on effectue la réaction de Liebermann-Burchard pour s'assurer que l'extraction est complète. Après évaporation partielle du solvant recueilli dans un bécher, le résidu est lavé avec de l'alcool à 50 pour 100 en utilisant la même ampoule. L'extrait est porté à sec.

d) Formation du complexe.

1ère Méthode - (Sperry et Webb)

Cette méthode est appliquée toutes les fois que la quantité de cholestérol à précipiter ne dépasse pas 1 milligramme (cas de la lymphe, des chylomicrons, du sérum et du contenu intestinal).

Deux aliquotes d'une solution de cholestérol, égaux en volume, sont transvasés dans les tubes à centrifuger. Le résidu après évaporation de l'éther de pétrole est dissous dans 5 cm^3 d'un mélange d'alcool éthylique-acétone (1/1). Pour former le complexe, on ajoute 2 cm^3 d'une solution de digitonine à 0,5 pour 100 dans de l'alcool à 50 % (Hoffman La Roche). Le lendemain, le complexe cholestérol-digitonine est centrifugé à 3 500 t. p. m pendant 20 minutes. Après une décantation soigneuse, le complexe est lavé avec environ 5 cm d'acétone-éther (1/1) puis deux fois avec de l'éther éthylique.

2ème Méthode - (Caminade)

Dans les cas où la quantité de cholestérol est supérieure à quelques milligrammes (foie-intestin), la précipitation du cholestérol est faite par la méthode de Caminade. Après évaporation de l'éther de pétrole, l'extrait sec est dissous dans 40 cm^3 d'une solution comprenant 73 % d'acétone, 17,5 % d'eau et 9,5 % d'alcool éthylique. Dans un autre bécher une solution de digitonine (1 mg pour 5 mg de poids d'extrait sec) est préparée avec 20 cm^3 du même solvant. Les deux solutions sont portées à l'ébullition ; la solution de digitonine est versée dans le bécher contenant la solution de cholestérol, tout en agitant. Trois heures après le complexe est filtré sur un papier filtre sans cendres, lavé avec de l'eau distillée bouillante, puis avec de l'éther éthylique. Il est séché en le gardant dans une étuve à 40°C pendant une nuit. Le complexe sec est repris à l'aide d'un scapel dans un tube à centrifuger taré. On détermine le poids du complexe.

e) Rupture du complexe cholestérol-digitonine.

Le complexe digitonosique sec est dissous par de la pyridine distillée sur potasse, (0,1 cm^3 pour 10 mg de complexe). Si c'est nécessaire, la dissolution est accélérée par la chaleur. Une quantité d'éther éthylique anhydre correspondant à, au moins, dix fois le volume de pyridine est additionnée à la pyridine. La digitonine précipite. Après centrifugation à 3 000 t. p. m pendant 10 minutes, on décante dans un tube à centrifuger le mélange éther-pyridine qui contient le cholestérol. Le culot de digitonine est remis en suspension avec le même volume d'éther. Après centrifugation on recueille l'éther. Cette deuxième opération assure le transfert complet du cholestérol.

L'évaporation du mélange est effectuée en employant un appareil conçu dans ce but. On y place les tubes à centrifuger contenant les solutions d'éther ; dans chaque tube plonge un capillaire. L'aspiration d'une trompe à eau assure un barbotage d'air et l'entrainement des vapeurs. En quelques heures, l'éther et la pyridine sont évaporés. Il reste dans le tube un résidu sec et blanc de cholestérol. Celui-ci est repris par l'éther anhydre dans des fioles jaugées.

f) Dosage par la réaction de Liebermann-Burchard.

Le complexe digitonosique obtenu selon la méthode de Sperry est dissous par 2 cm^3 d'acide acétique glacial (Merck) (70). On ajoute 4 cm^3 d'un mélange composé de 5 pour 100 d'acide sulfurique dans de l'anhydride acétique (Merck). La coloration se développe en gardant le tube à l'obscurité dans un bain-marie à 30°C pendant 30 minutes. A l'aide d'un spectrophotomètre (Beckman) la densité optique de la solution est mesurée à 660 mμ et comparée avec celle des témoins. On calcule ensuite les quantités de cholestérol contenu dans les échantillons.

C - Mesure de la radioactivité.

Pour mesurer la radioactivité du cholestérol, nous nous sommes servis d'un spectromètre à scintillation liquide (Packard).

Des volumes connus de solvant contenant le cholestérol sont mis dans les fioles spéciales, simultanément aux prises faites pour le dosage du cholestérol. Le solvant est évaporé et le résidu dissous dans 15 cm^3 de liquide fluorescent composé de 4 g de diphenyloxazole et 100 mg de 1 - 4 di 2 - 5 phényloxazolyl benzène dissous dans un litre de toluène distillé. Les échantillons sont comptés plusieurs fois. Le nombre total d'impulsions enregistrées est tel que l'erreur standard sur la mesure n'excède pas 5 pour 100.

Après la correction du bruit de fond et connaissant la quantité de cholestérol dans les fioles correspondantes, on calcule la radioactivité spécifique du cholestérol de chaque échantillon. Elle est exprimée par le nombre d'impulsions enregistrées par minute et par milligramme de cholestérol (i. p. m / mg).

IV - PREPARATION DE L'OLEATE DE CHOLESTERYLE - 4 - ^{14}C.

La synthèse de ce produit a été faite à partir de l'acide oléique et du cholestérol - 4 - ^{14}C, selon les principes de Page et Rudy (59). Une étude préliminaire nous a permis de constater qu'en utilisant 1 mg de cholestérol pour 25 à 30 mg d'acide oléique le rendement en cholestérol estérifié dépasse 90 pour 100. On a, donc, dissous 5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C (10 μ Ci) dans 163 mg d'acide oléique et placé cette solution pendant 3 heures dans une étuve à 200°C sous un courant continu de gaz carbonique. A la fin de cette réaction, on sépare le cholestérol estérifié, le cholestérol libre et l'acide oléique par chromatographie sur acide silicique (52). On a retrouvé 92,4 % des 5 mg de cholestérol utilisé dont 95,6 % à l'état estérifié, 3 à l'état estérifié dans la fraction acide oléique et 1,4 à l'état de cholestérol libre. Les radioactivités des diverses fractions sont dans le rapport des quantités de cholestérol qu'elles contiennent. L'oléate de cholestéryle ainsi purifié est dissous dans l'acide oléique (0,5 mg/cm^3).

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Les résultats individuels, concernant les dosages et les radioactivités spécifiques, sont reportés dans les tableaux II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX et X.

Tableau II

Quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons, l'intestin et le contenu intestinal des rats recevant une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.
(Nomenclature - Expérience A_0)

RATS			QUANTITES (mg)						
			1	2	3	4	5	6	7
Lymphe	0 - 8 H	L	0,16	0,17	0,19	0,23	0,18	0,11	
		E	0,21	0,63	0,69	0,59	0,74	0,63	
	8 - 16 H	L	0,44	0,29	0,31	0,12	0,24	0,20	
		E	0,88	0,54	0,87	0,31	0,68	0,99	
	16 - 24 H	L	0,60	0,23	0,41	0,41	0,28	0,23	
		E	1,01	0,89	1,02	1,28	0,23	0,45	
Chylo-microns	0 - 8 H	L	0,41	0,46	0,31	0,69	0,75	0,50	
		E	0,54	0,37	0,42	0,43	0,44	0,50	
	8 - 16 H	L	0,43	0,63	0,69	0,80	0,62	1,0	
		E	0,41	0,63	0,54	0,92	0,57	1,18	
	16 - 24 H	L	0,75	0,68	0,55	1,19	0,58	0,74	
		E	1,03	0,57	0,74	1,61	0,69	0,91	
Intestin		L	13,3	15,0	12,1	13,7	14,7	14,9	14,8
		E	0,33	0,31	0,17	0,55	0,48	0,45	0,63
Contenu Intestinal		L		0,90	1,27	0,59	0,19	0,75	0,74
		E		0,05	0,06	0,07	0,06	0,08	0,04

Tableau III

Quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons, l'intestin et le contenu intestinal des rats recevant une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.
(Nomenclature - Expérience A_1)

RATS			QUANTITES (mg)				
			1	2	3	4	5
Lymphe	0 - 8 H	L	0,22	0,12	0,24	0,35	0,15
		E	1,21	0,62	0,86	0,85	0,65
	0 - 16 H	L	0,18	0,64	0,14	0,47	0,35
		E	1,07	1,66	0,48	1,25	0,60
	16 - 24 H	L		0,39	0,24	0,50	0,46
		E		0,95	0,72	1,18	1,10
Chylo-microns	0 - 8 H	L	1,01	0,57	1,36	1,10	1,22
		E	0,92	0,47	0,77	0,71	1,11
	8 - 16 H	L	0,17	1,22	1,63	1,41	1,71
		E	0,20	1,85	1,58	1,32	1,73
	16 - 24 H	L		1,07	1,49	1,80	1,54
		E		1,75	2,06	2,20	0,75
Intestin		L	14,5	18,0	14,5	17,1	11,8
		E	0,5	0,28	0,60	0,55	0,5
Contenu intestinal		L	1,9	1,25	0,79	0,87	1,1
		E	0,11	0,01	0,05	0,05	0,04

Tableau IV

Radioactivités spécifiques du cholestérol libre (L) et estérifié (E) de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant des rats recevant une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.
(Nomenclature : Expériences A_1)

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES (ipm/mg)				
			1	2	3	4	5
Lymphe	0 - 8	L	1 220	990	600	280	930
	H	E	560	590	290	170	590
	8 - 16	L	3 125	1 640	1 700	1 050	2 230
	H	E	1 830	1 500	1 070	1 160	2 390
	16 - 24	L		2 460	2 560	1 680	2 740
	H	E		2 940	2 140	1 910	2 970
Chylo-microns	0 - 8	L	800	760	510	280	650
	H	E	530	390	190	110	240
	8 - 16	L	5 200	1 350	1 000	880	1 950
	H	E	740	840	800	590	1 040
	16 - 24	L		2 480	2 090	1 340	2 300
	H	E		1 590	1 600	1 110	1 710
Intestin		L	2 320	1 260	1 120	930	1 560
		E	2 130	1 470	1 120	1 040	1 610
Contenu Intestinal		L	3 780	1 490	1 600	1 160	- 1 590
		E	1 220		500	300	1 090
Sérum		L	12 870	6 200	5 400	4 350	6 200
		E	6 200	4 150	3 600	3 070	4 030
Foie		L	8 710	4 900	4 400	3 910	5 880
		E	4 680	3 580	2 780	2 560	3 560

Tableau V

Radioactivités spécifiques et quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats porteurs d'une fistule biliaire et recevant une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.
(Nomenclature - Expérience A_2)

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES. (ipm/mg)		QUANTITES (mg)	
			1	2	1	2
Lymphe	0 - 8 H	L	300	260	0,19	0,21
		E	350	200	0,70	0,40
	8 - 16 H	L	1 720	1 040	0,67	0,33
		E	1 850	1 180	0,36	0,64
	16 - 24 H	L	2 820	1 420	0,52	0,20
		E	3 050	1 970	0,56	0,44
Chylo-microns	0 - 8 H	L	300	310	1,01	0,67
		E	150	120	0,43	0,19
	8 - 16 H	L	1 270	970	0,84	0,50
		E	950	820	0,28	0,10
	16 - 24 H	L	1 950	1 400	0,65	0,43
		E	1 310	1 470	0,59	0,45
Intestin		L	1 510	780	13,6	14,47
		E	2 110	1 130	0,41	0,35
Contenu Intestinal		L	1 160	710	0,20	0,91
		E	1 200	600	0,04	0,06
Sérum		L	12 650	4 770		
		E	6 220	2 800		
Foie		L	8 250	3 730		
		E	4 840	2 350		
Bile	0 - 8H	T	1 460	800	0,96	0,97
	8 - 16H	T	4 240	2 360	1,24	1,15
	16 - 24H	T	7 200	3 400	1,37	1,09

Tableau VI

Radioactivités spécifiques et quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats recevant par perfusion de l'acétate 1 - ^{14}C.
(Nomenclature : Expérience B_1).

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES (ipm/mg)			QUANTITES (mg)		
			1	2	3	1	2	3
Lymphe	0 - 8	L	460	980	1 120	0,13	0,30	1,0
	H	E	180	640	740	0,19	0,40	0,09
	8 - 16	L	1 700	4 120	5 320	0,20	0,76	0,42
	H	E	1 330	4 000	5 230	0,30	0,43	0,17
	16 - 24	L	4 110	7 800	12 000	0,38	0,88	0,80
	H	E	4 010	8 030	12 100	0,82	0,65	0,30
Chylo-microns	0 - 8	L	400	890	2 220	0,75	1,00	1,40
	H	E	900	930	2 000	0,36	0,90	1,20
	8 - 16	L	1 400	4 370	6 840	0,75	1,50	0,84
	H	E	2 080	4 300	7 550	0,61	1,30	0,70
	16 - 24	L	3 200	6 850	11 400	0,90	1,20	0,80
	H	E	3 630	6 460	11 600	0,94	0,60	1,30
Intestin		L	6 580	7 760	15 000	16,0	13,3	13,0
		E	6 000	6 400	14 000	0,60	0,50	0,30
Contenu Intestinal		L	5 720	7 000	14 900	0,44	0,5	0,95
		E	1 200	2 600	6 000	0,02	0,09	0,08
Sérum		L	7 620	13 000	21 000			
		E	6 500	12 000	19 000			
Foie		L	10 000	15 500	27 000			
		E	8 350	12 300	16 000			

Tableau VII

Radioactivités spécifiques et quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats porteurs d'une fistule biliaire et recevant par perfusion de l'acétate 1 - ^{14}C.
(Nomenclature - Expérience B_2)

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES. (ipm/mg)		QUANTITES (mg)	
			1	2	1	2
Lymphe	0 - 8 H	L	2 500	1 430	0,.6	0,16
		E	1 600	450	0,1	0,16
	8 - 16 H	L	10 800	4 440	0,55	0,06
		E	7 300	2 800	0,48	0,03
	16 - 24 H	L	18 000	11 500	0,54	0,09
		E	16 200	8 800	0,42	0,08
Chylo-microns	0 - 8 H	L	3 000	1 900	0,53	0,13
		E	3 200		0,30	0,03
	8 - 16 H	L	12 000	7 800	0,25	0,20
		E	8 000		0,05	0,001
	16 - 24 H	L	19 000	14 200	0,32	0,28
		E	16 000	18 000	0,04	0,007
Intestin		L	22 500	22 000	12,2	11,6
		E	12 300	11 100	0,13	0,30
Contenu Intestinal		L	20 800	26 000	0,50	0,20
		E	3 230	2 600	0,10	0,03
Sérum		L	26 400	12 000		
		E	23 400	11 500		
Foie		L	32 000	13 500		
		E	24 000	12 300		
Bile	0 - 8 H	T	3 800	4 600	0,72	0,5
	8 - 16 H	T	18 100	12 300	0,9	0,5
	16 - 24 H	T	28 300	13 500	1,0	0,2

Tableau VIII

Radioactivités spécifiques et quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats recevant 0,5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C et sacrifiés 24 heures plus tard
(Nomenclature : Expérience C_1)

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES (ipm/mg)			QUANTITES (mg)		
			1	2	3	1	2	3
Lymphe	0 - 8	L	2 600	4 600	2 720	0,40	0,50	0,40
	H	E	1 000	1 700	1 260	0,09	0,36	0,50
	8 - 16	L	3 730	2 540	3 900	0,60	0,75	0,50
	H	E	1 460	1 230	3 800	0,10	0,84	0,30
	16 - 24	L	1 730	6 930	2 310	0,60	0,60	0,63
	H	E	840	2 300	1 240	0,30	1,0	0,66
Chylo-microns	0 - 8	L	6 300	10 200	4 750	0,90	1,10	0,90
	H	E	13 600	17 500	9 200	0,80	0,90	1,30
	8 - 16	L	7 100	11 700	6 800	1,0	1,30	0,90
	H	E	13 100	18 500	12 100	1,0	1,0	1,30
	16 - 24	L	3 150	8 210	6 000	1,4	1,4	1,0
	H	E	3 900	7 340	8 400	2,0	1,2	1,4
Intestin		L	1 300	2 220	2 630	15,0	15,0	13,2
		E	1 140	2 100	2 600	0,25	0,50	0,50
Contenu Intestinal		L	2 650	3 400	4 830	0,93	0,63	0,50
		E	780	710	780	0,08	0,06	0,08
Sérum		L	40	80	110			
		E	30	70	60			
Foie		L	20	90	80			
		E	20	60	50			

Tableau IX

Radioactivités spécifiques et quantités de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats recevant 0,5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C et sacrifiés 8 heures plus tard. (Nomenclature : Expériences C_2).

RATS		RADIOACTIVITES SPECIFIQUES (ipm/mg)				QUANTITES (mg)			
		1	2	3	4	1	2	3	4
Lymphe 0 - 8 H	L	2 620	6 300	1 600	4 830	0,90	0,70	1,10	0,90
	E	870	3 200	410	1 700	0,66	0,40	0,16	0,25
Chylo-microns 0 - 8 H	L	11 700	20 400	7 600	21 000	1,0	1,3	1,1	1,2
	E	22 200	45 500	11 000	34 000	0,7	1,3	0,30	0,90
Intes-tin	L	10 100	21 000	7 000	14 500	15,0	13,0	16,4	13,0
	E	9 900	-	4 700	14 000	0,40	0,50	0,60	0,30
Contenu Int.	L	82 300	54 000	80 000	79 000	0,45	0,57	0,52	0,5
	E	59 000	33 100	27 200	27 200	0,27	0,08	0,15	0,15
Sérum	L	190	170	20	120				
	E	100	160	15	70				
Foie	L	110	80	30	90				
	E	90	40	10	30				

Tableau X

Radioactivité spécifique et quantité de cholestérol libre (L) et estérifié (E) contenues dans la lymphe, les chylomicrons et divers milieux provenant de rats recevant 0,25 mg de cholestérol 4 - ^{14}C sous forme d'oléate.
(Nomenclature : Expérience D_1)

RATS			RADIOACTIVITES SPECIFIQUES (ipm/mg)			QUANTITES (mg)		
			1	2	3	1	2	3
Lymphe	0 - 8	L	3 630	3 530	1 900	1,4	0,64	0,43
	H	E	1 800	920	590	0,10	0,51	0,74
	8 - 16	L	5 700	4 900	2 750	1,2	0,54	0,64
	H	E	2 500	2 000	1 400	0,50	1,1	0,85
	16 - 24	L	2 300	2 150	1 230	1,2	0,85	1,5
	H	E	1 300	1 200	690	0,50	1,2	1,0
Chylo-microns	0 - 8	L	4 730	6 600	6 500	1,2	1,16	1,14
	H	E	9 300	11 900	11 000	1,4	1,14	0,95
	8 - 16	L	6 830	10 400	7 620	1,67	1,7	2,2
	H	E	11 200	16 100	11 450	1,73	1,7	2,1
	16 - 24	L	3 100	5 350	3 340	1,76	1,9	2,1
	H	E	4 300	8 100	4 100	1,93	2,4	2,5
Intestin		L	1 120	2 100	1 440	15,0	19,0	17,1
		E	1 360	1 800	1 430	0,40	0,50	0,50
Contenu Intestinal		L	2 340	4 900	2 660	0,70	2,1	0,80
		E	1 100	2 900	360	0,05	0,10	0,09
Sérum		L	10	190	30			
		E	50	60	40			
Foie		L	50	50	30			
		E	20	40	20			

I - RESULTATS PONDERAUX.

Le poids moyen du chyle abdominal recueilli en 24 heures pour les 25 rats utilisés est de 27 g. Par fraction de 8 heures, on note peu de changements, les valeurs moyennes étant successivement de 9,8, 9,7 et 7,5.

Dans nos conditions expérimentales, la quantité moyenne de cholestérol total, contenu dans le chyle de 24 heures, atteint pratiquement 9 mg. Approximativement, 6 mg sont inclus dans les chylomicrons, 3 mg dans la lymphe (Tableau XI). Le rapport de la quantité de cholestérol libre à celle du cholestérol estérifié est de 1, tant dans les chylomicrons que la lymphe.

Si l'on considère les quantités de cholestérol libre et estérifié de la lymphe et des chylomicrons par fraction de 8 heures, on constate que, pour tous les rats elles augmentent avec la durée de l'expérience d'environ 30 pour 100 en moyenne, par rapport à la collection précédente (Tableau XI).

Tableau XI

Quantités moyennes (mg) de cholestérol libre (CHL), estérifié (CHE) de la lymphe et des chylomicrons en fonction de la période de collection du chyle abdominal.

Période des collections (h)	Nature du Cholestérol	Lymphe	Chylomicrons
0 - 8	CHL CHE	0,42 0,42	0,90 0,70
8 - 16	CHL CHE	0,51 0,63	1,01 0,90
16 - 24	CHL CHE	0,59 0,64	1,08 1,17
0 - 24	CHL CHE	1,52 1,69	2,99 2,77

Les quantités moyennes de cholestérol libre et estérifié, exprimées par expérience, sont reportées sur la figure 1. Ces résultats seront l'objet de quelques remarques.

A - Les valeurs concernant la paroi intestinale sont pratiquement les mêmes quel que soit le type de l'expérience (14 - 15 mg). Le cholestérol estérifié représente constamment le trentième du cholestérol total.

B - Dans le contenu intestinal, on isole, en moyenne, 1 mg de cholestérol. Le rapport du cholestérol estérifié au cholestérol total est de 0,1.

C - Dans les chylomicrons, les concentrations de cholestérol libre et, particulièrement, de cholestérol estérifié sont faibles lorsque les expériences comportent une fistule biliaire. La supplémentation par la bile d'un autre rat est donc insuffisante à maintenir les rats dans les mêmes conditions expérimentales que leurs témoins.

D - Dans la lymphe, l'égalité, énoncée ci-dessus, des quantités moyennes de cholestérol libre et estérifié, n'est pas vérifiée si l'on considère les résultats par expérience. Le cholestérol estérifié représente environ 40 pour 100 du cholestérol total dans tous les cas, sauf dans ceux où les rats reçoivent le cholestérol par voie sous-cutanée. Pour ceux-ci le cholestérol estérifié est deux fois plus abondant que le libre.

II - RADIOACTIVITES SPECIFIQUES.

Les valeurs des radioactivités spécifiques d'un même échantillon biologique fournies par les rats d'une expérience varient souvent du simple au double. Mais la comparaison, entre les rats, des rapports des valeurs obtenues pour deux échantillons différents d'un même rat sont toujours d'un même ordre de grandeur. Ceci justifie que l'on puisse pour effectuer, à propos de chaque ty-

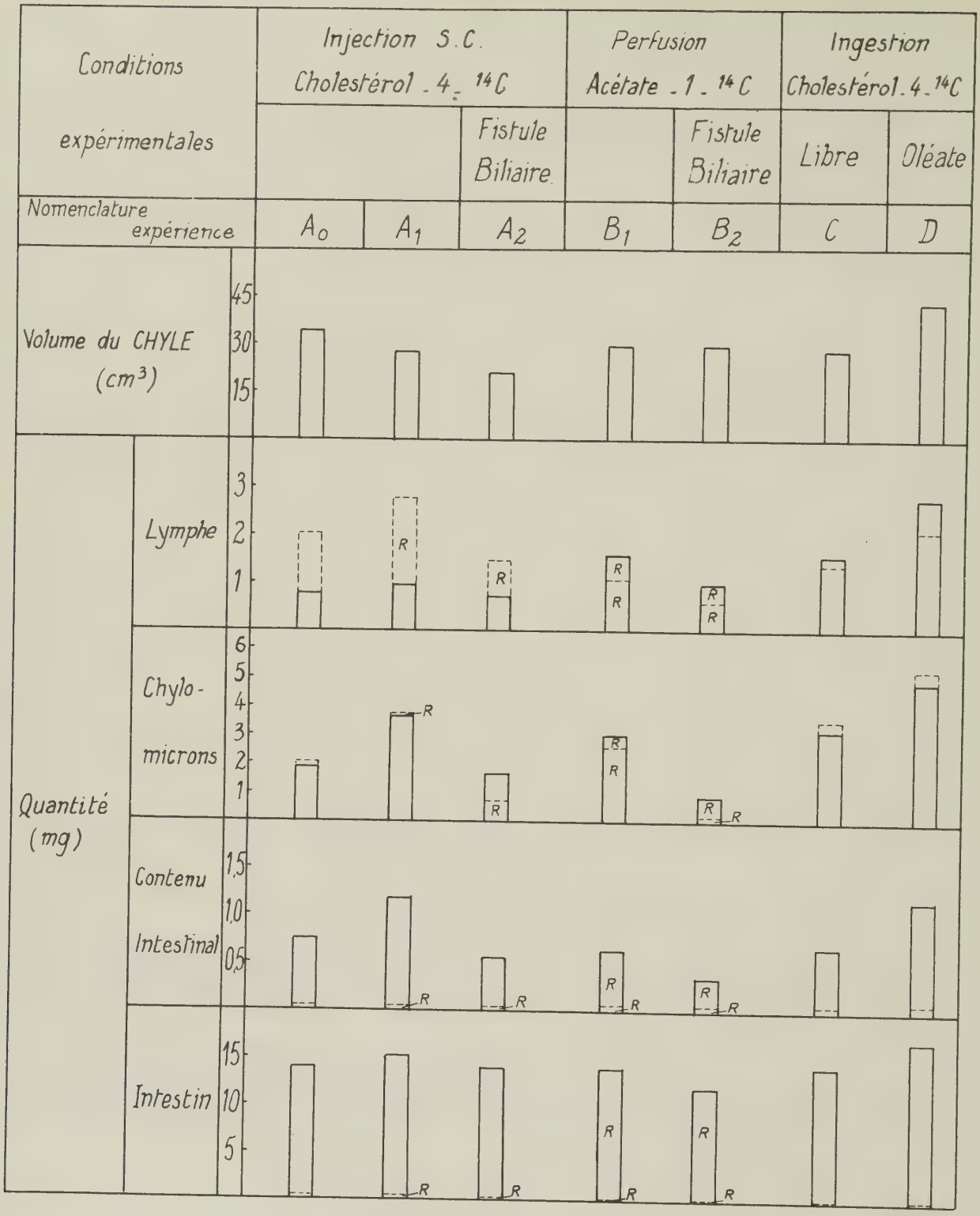

Figure 1 - Volumes moyens de chyle et quantités moyennes de cholestérol libre (trait plein) et estérifié (trait discontinu) contenues dans la lymphe, les chylomicrons, le contenu et la paroi intestinale (la lettre R signifie que les résultats ont été obtenus après rupture du complexe cholestérol-digitonine).

pe d'échantillon, une moyenne par expérience et pour comparer les moyennes des diverses expériences, rapporter toutes les radioactivités spécifiques à une valeur de référence. On a donc, corrigé les résultats obtenus en prenant comme base arbitraire la valeur 1 000 pour la radioactivité spécifique du cholestérol libre des chylomicrons provenant du chyle collecté dans les 8 premières heures de toutes les expériences.

A - Injection sous-cutanée de cholestérol - 4 - ^{14}C.

a) Dans ces expériences, l'apparition de cholestérol radioactif dans le contenu intestinal s'explique par une excrétion de cholestérol d'origine sérique par l'intermédiaire de la bile et, surtout, de la paroi intestinale (19, 20).

Les résultats sont reportés sur la figure 2. On constate que les radioactivités spécifiques du cholestérol libre et estérifié de la lymphe croissent régulièrement dans le temps, et sont constamment supérieures à celles du cholestérol correspondant dans les chylomicrons. Il faut, aussi, souligner que la radioactivité spécifique du cholestérol libre des chylomicrons est de 35 à 100 pour cent plus élevée que celle du cholestérol estérifié. Dans le contenu intestinal, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié est voisine du tiers de celle du cholestérol libre ; dans la paroi intestinale, elles sont pratiquement égales.

b) Dans les expériences où l'on substitue au cholestérol biliaire radioactif du rat en expérience, du cholestérol biliaire non radioactif, le cholestérol radioactif du contenu intestinal provient de la seule excrétion intestinale de cholestérol. Bien que la radioactivité spécifique du cholestérol du contenu intestinal soit plus faible dans ces cas que dans les précédentes, les résultats sont, dans leur ensemble, comparables (figure 3), à une exception près. La radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du contenu intestinal égale les 8/10 de celle du cholestérol libre. On rappellera que, dans ces seules expériences, la quantité de cholestérol estérifié des chylomicrons est inférieure à celle du cholestérol libre.

B - Perfusion d'acétate 1 - ^{14}C.

a) Les résultats obtenus montrent, pour une même période de collection de chyle, la quasi égalité des radioactivités spécifiques du cholestérol libre de la lymphe et des chylomicrons (figure 4). Celles-ci croissent dans le temps comme dans les expériences précédentes. Par ailleurs, le rapport de la radioactivité spécifique du cholestérol libre de la paroi intestinale à celle du cholestérol libre sérique (0,8) est beaucoup plus élevé dans ce cas que dans celui où le rat reçoit le cholestérol par voie sous-cutanée (0,2). La paroi intestinale contient, donc, du cholestérol synthétisé "in situ", en plus, du cholestérol de transfert d'origine sérique (16). La même observation peut être faite à propos du cholestérol du contenu intestinal qui contient, outre du cholestérol radioactif d'excrétion, du cholestérol radioactif de secrétion (18, 19).

b) La substitution du cholestérol biliaire radioactif par du cholestérol biliaire non radioactif aboutissant à une diminution des quantités de cholestérol estérifié dans les chylomicrons, certaines mesures des radioactivités spécifiques n'ont pu être entreprises. Les rapports entre les radioactivités spécifiques du cholestérol de l'intestin, du contenu intestinal, de la lymphe et des chylomicrons sont semblables à ceux mis en évidence avec les rats sans fistule biliaire (figure 5).

C - Ingestion de cholestérol 4 - ^{14}C.

a) Les infimes radioactivités spécifiques du cholestérol sérique et hépatique, par rapport à celles du cholestérol des chylomicrons, confirment, une fois de plus, le déversement par voie lymphatique du cholestérol absorbé (3, 14) (figure 6). Mais le fait que ces radioactivités ne soient pas nulles montre qu'une très faible quantité de cholestérol absorbé emprunte la voie portale, ou, plus probablement, un canal lymphatique accessoire.

On remarque 3 faits :

1/ Bien que le cholestérol de synthèse et de transfert d'origine sérique ne soit pas radioactif, la lymphe contient du cholestérol radioactif. Sa radioactivité totale représente environ le vingtième de celle des chylomicrons.

2/ Dans ces particules, pendant la phase la plus intense de l'absorption, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié est presque le double de celle du cholestérol libre.

3/ Contrairement aux expériences précédentes où les radioactivités spécifiques évoluent selon une cinétique croissante, les radioactivités spécifiques du cholestérol des chylomicrons présentent un maximum entre la 8ème et la 16ème heure. Pour faciliter l'interprétation des résultats, on a été amené à sacrifier 4 rats, 8 heures après le tubage gastrique.

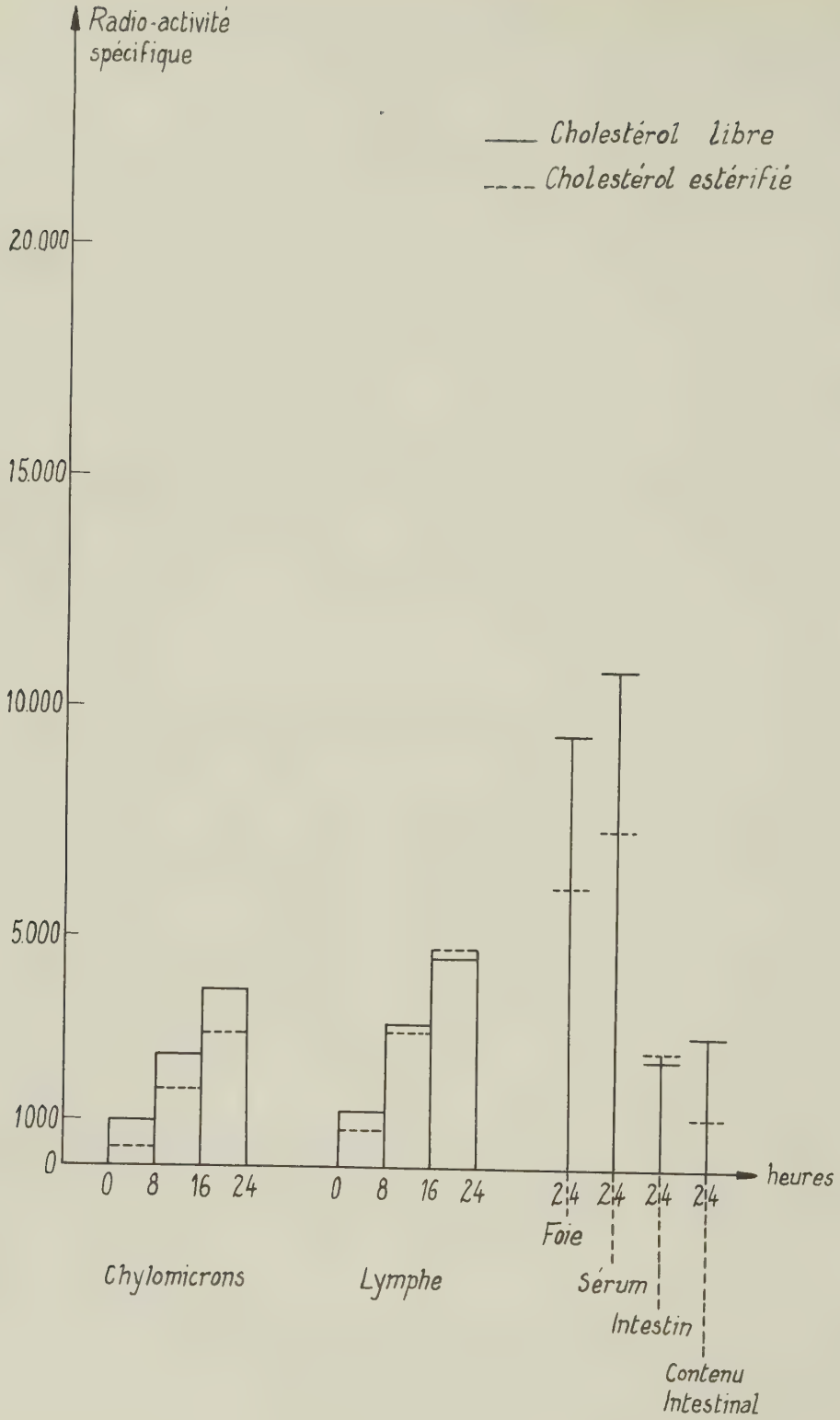

Figure 2 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 5 rats ayant reçu une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.

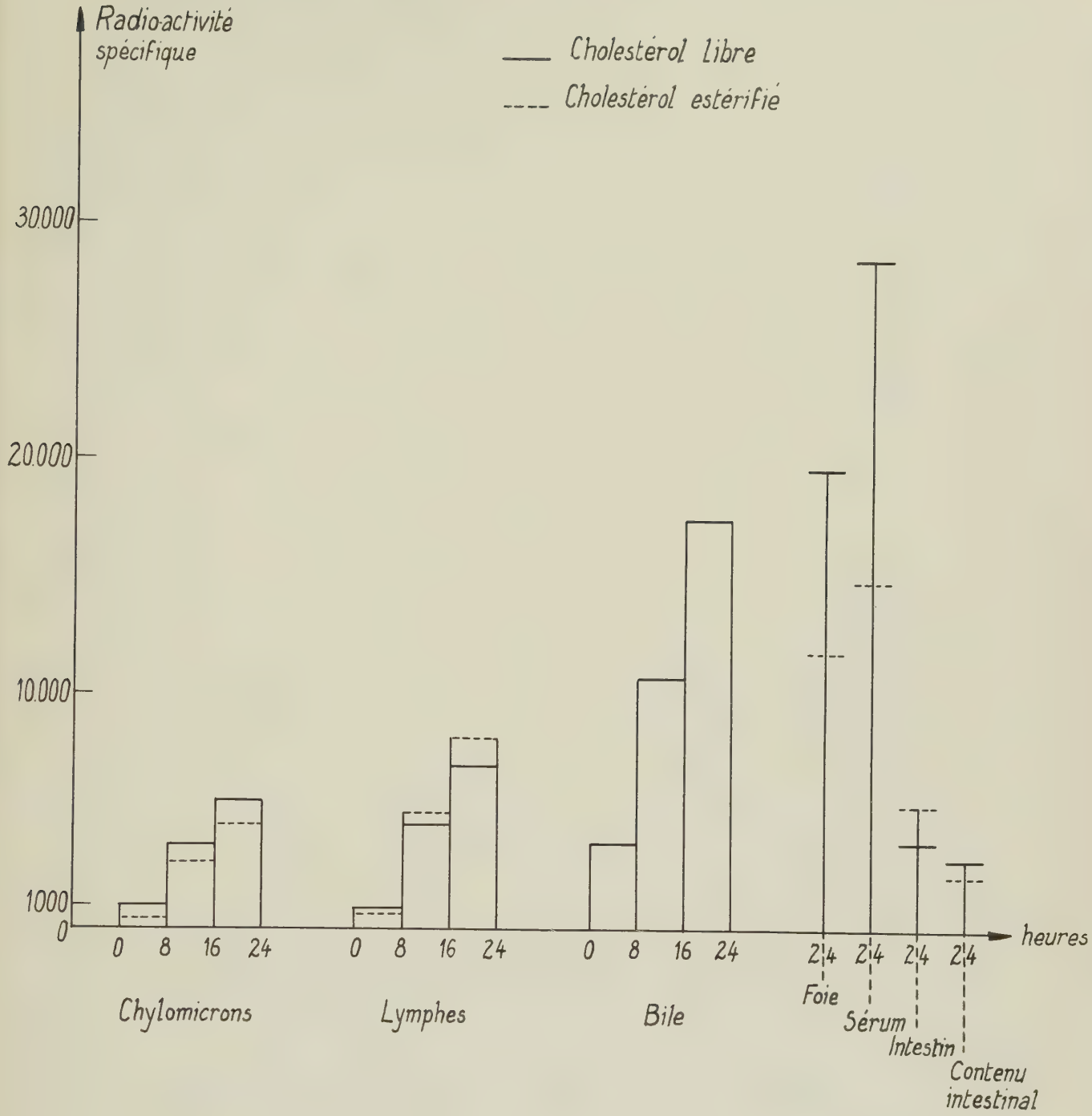

Figure 3 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 2 rats, porteurs d'une fistule biliaire, ayant reçu une injection sous-cutanée de cholestérol 4 - ^{14}C.

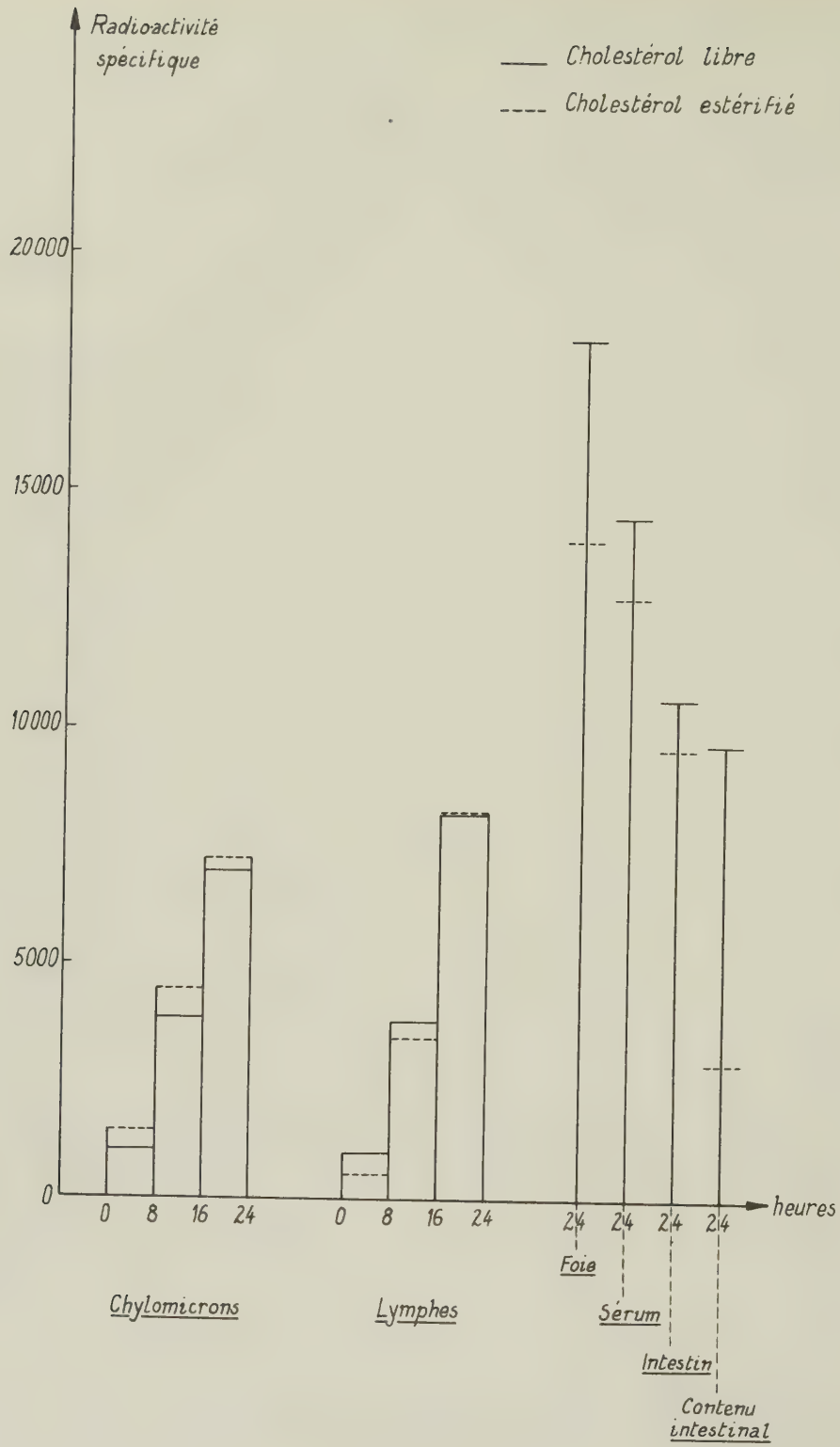

Figure 4 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 3 rats ayant reçu par perfusion de l'acétate 1 - ^{14}C.

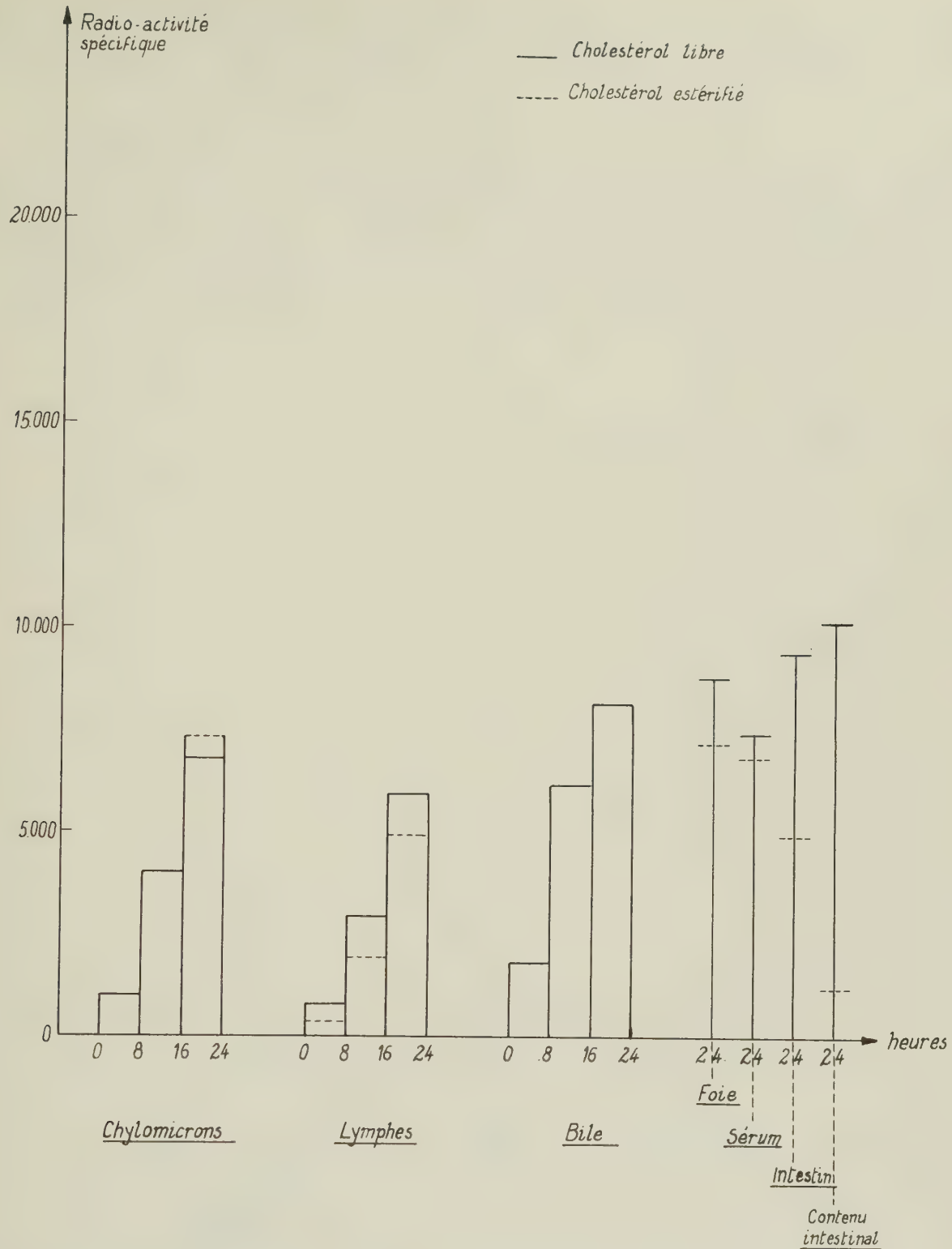

Figure 5 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 2 rats, porteurs d'une fistule biliaire, ayant reçu par perfusion de l'acétate 1 - ^{14}C.

Figure 6 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 3 rats ayant reçu 0,5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C et sacrifiés 24 heures plus tard.

b) Le sacrifice au bout de 8 heures ne modifie en rien les résultats relatifs à la lymphe et aux chylomicrons (figure 7). La radioactivité spécifique du cholestérol libre du contenu intestinal, est près de 3 fois plus élevée que celle du cholestérol estérifié des chylomicrons. De plus, dans le contenu intestinal, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié égale la moitié de celle du cholestérol libre. Une estérification intraluminaire est donc certaine (26).

D - Ingestion d'oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C.

Les résultats sont identiques à ceux que l'on a obtenus en donnant du cholestérol non estérifié (figure 8). De plus, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du contenu intestinal, après 24 heures d'expérience, est inférieure à celle du cholestérol libre. Ces faits inattendus nous ont conduit à vérifier à plusieurs reprises que le cholestérol administré par tubage gastrique était bien sous forme d'oléate et que, 8 heures après le tubage gastrique, une fraction importante du cholestérol du contenu intestinal (grêle + coecum) se trouvait encore à l'état de cholestérol 4 - ^{14}C estérifié. Ces faits soulignent la vitesse de l'hydrolyse que d'autres travaux ont mis en évidence (31, 63, 75, 80).

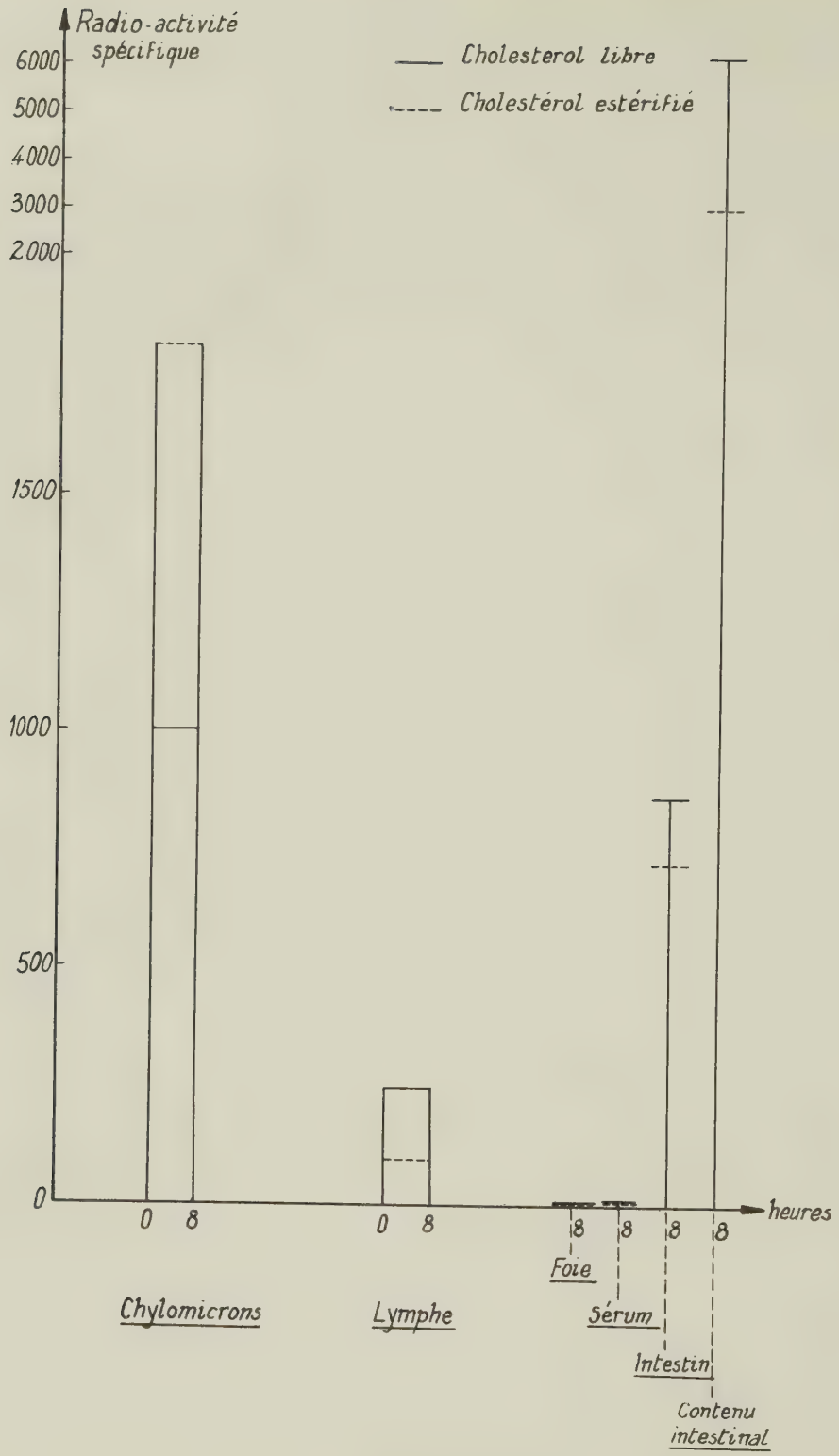

Figure 7 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 4 rats ayant reçu 0,5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C et sacrifiés 8 heures plus tard.

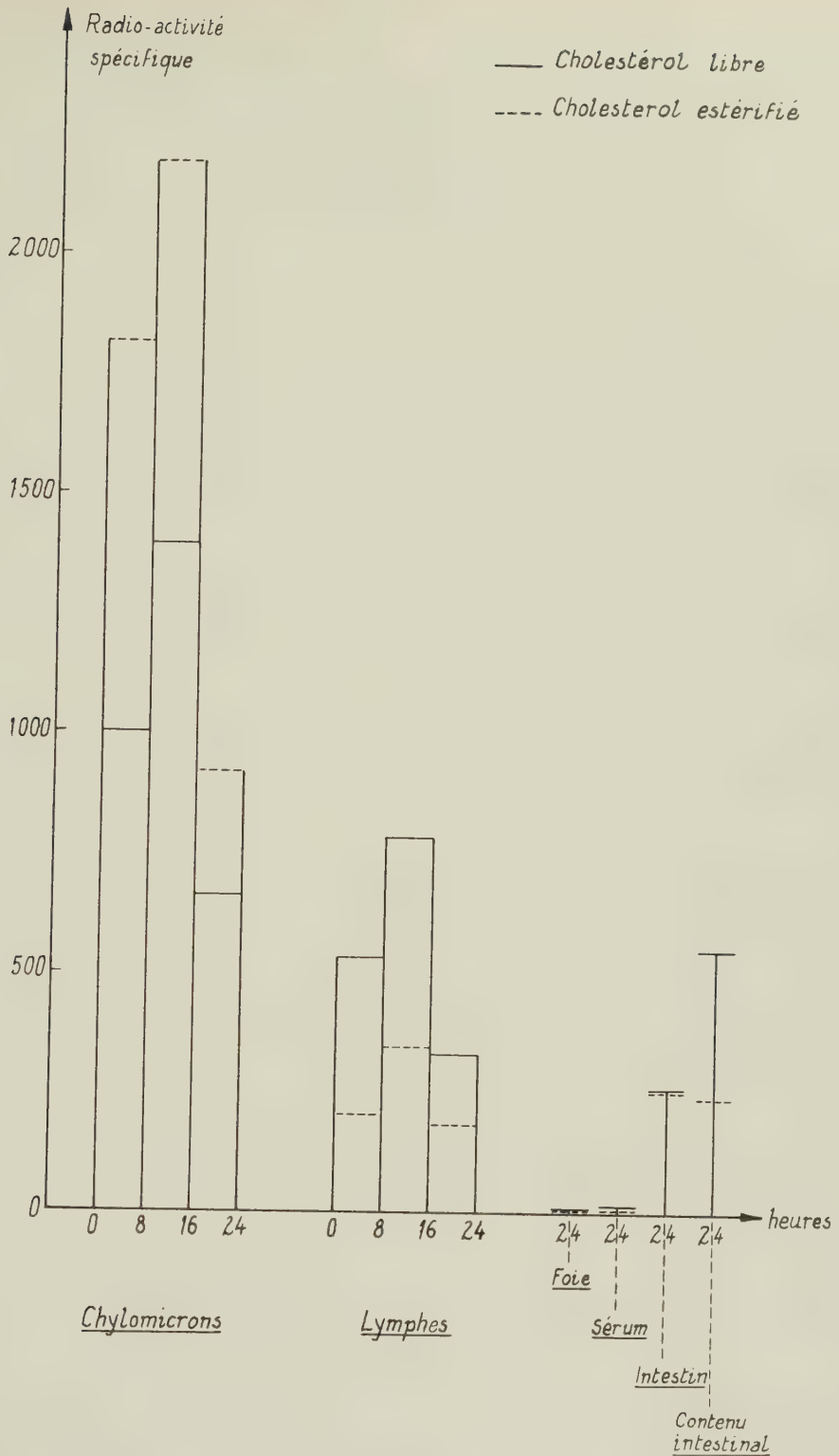

Figure 8 - Radioactivités spécifiques moyennes (ipm/mg) du cholestérol libre et estérifié de la lymphe, des chylomicrons et de divers milieux provenant de 3 rats ayant reçu 0,25 mg de cholestérol 4 - ^{14}C sous forme d'oléate.

CHAPITRE IV

DISCUSSION

1/ Forme sous laquelle le cholestérol est absorbé.

L'identité des résultats obtenus après l'ingestion de cholestérol libre ou estérifié, prouve que le cholestérol absorbé l'est totalement sous la forme libre ou totalement sous la forme estérifiée. Dans les autres expériences (injection sous-cutanée, perfusion), les radioactivités spécifiques du cholestérol libre ou estérifié des chylomicrons de la fraction 16-24 heures sont de 2 à 5 fois supérieures à la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du contenu intestinal. Ce fait exclut que le cholestérol des chylomicrons puisse provenir de l'absorption du cholestérol estérifié du contenu intestinal. On conclut donc, d'une part, que le cholestérol est absorbé sous la forme libre, et que, d'autre part, le cholestérol estérifié des chylomicrons résulte de l'estérification du cholestérol libre après son absorption. Ces conclusions sont en accord avec celles exprimées par de nombreux auteurs (31, 32, 42, 63, 75, 79, 80).

2/ Origine du cholestérol estérifié des chylomicrons.

La radioactivité spécifique du cholestérol estérifié des chylomicrons est, dans toutes les expériences, plus proche de celle du cholestérol libre du contenu intestinal que ne l'est celle du cholestérol libre des chylomicrons. Ce fait explique que nous discutions, en premier, de l'origine du cholestérol estérifié des chylomicrons.

On remarquera tout d'abord que les radioactivités spécifiques du cholestérol des chylomicrons représentent des valeurs moyennes, puisque ceux-ci sont collectés pendant 8 heures. Dans le cas du contenu intestinal, il s'agit, au contraire, de valeurs correspondant à un instant précis (8ème ou 24ème heures). Pour déterminer les radioactivités spécifiques du cholestérol des chylomicrons au moment du sacrifice, on admettra, en première approximation, que celles-ci croissent linéairement en fonction du temps. Cette interpolation est valable pour les 2 premiers types d'expérience (injection sous-cutanée de cholestérol, perfusion d'acétate) ; elle l'est aussi, dans le cas de l'ingestion de cholestérol, si l'expérience est arrêtée au bout de 8 heures. Les déterminations graphiques concernant la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié des chylomicrons sont reportées sur la figure 9.

A l'aide de ces valeurs corrigées, on peut classer les résultats en 3 groupes. Le premier correspond au cas où le cholestérol alimentaire est radioactif. La radioactivité spécifique corrigée du cholestérol estérifié des chylomicrons correspond à 60 pour 100 de celle du cholestérol libre du contenu intestinal. Etant donné l'origine stomacale du cholestérol radioactif, on remarquera qu'à un instant donné, selon le niveau considéré de l'intestin, les radioactivités spécifiques du cholestérol du contenu intestinal peuvent être très différentes. En d'autres termes, rien ne prouve que la radioactivité spécifique moyenne du cholestérol absorbé sur toute la longueur de l'intestin soit égale à la radioactivité spécifique moyenne du cholestérol de tout le contenu intestinal. Cette remarque peut conduire à minimiser la différence des radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié des chylomicrons et du cholestérol libre du contenu intestinal.

Dans le cas des autres expériences, le cholestérol radioactif du contenu intestinal correspond à du cholestérol soit d'excrétion, soit de secrétion. Ces processus s'effectuent, d'une façon diffuse, sur la totalité ou une partie de la surface de la paroi intestinale. L'élimination biliaire fait exception ; mais, on sait, qu'elle ne représente qu'une faible fraction du cholestérol excrété (19). Ainsi, la remarque faite précédemment à propos de l'hétérogénéité du contenu intestinal, dans le cas de l'ingestion de cholestérol, n'est plus valable. Lorsque les animaux reçoivent du cholestérol 4 - ^{14}C par voie sous-cutanée (2ème groupe), la radioactivité spécifique du cholestérol libre du contenu intestinal est inférieure de 20 et 40 pour 100 à celle du cholestérol estérifié des chylomicrons. Dans

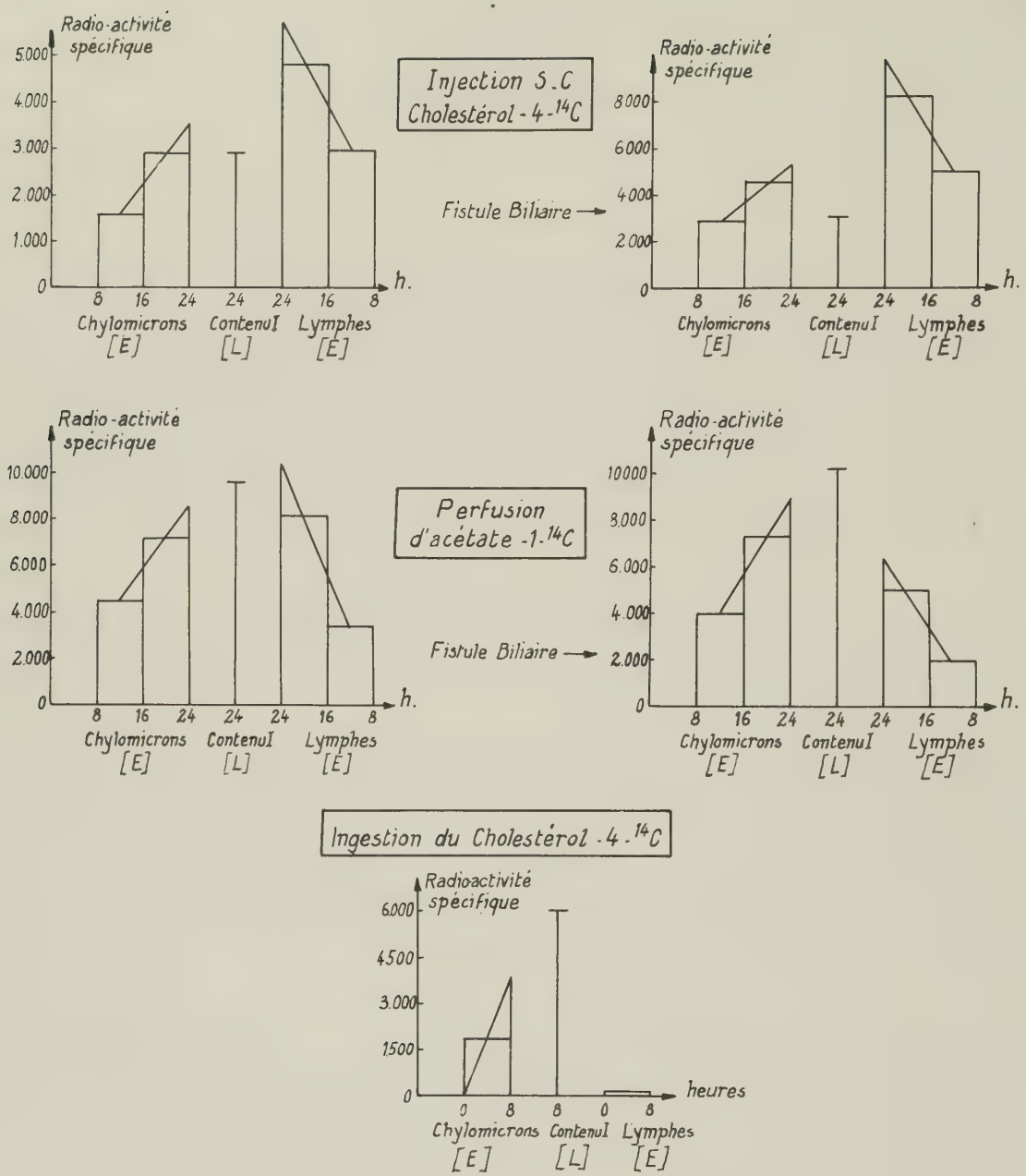

Figure 9 - Détermination graphique des radioactivités spécifiques moyennes du cholestérol estérifié (E) des chylomicrons et de la lymphe au moment du sacrifice des animaux. Comparaison de ces valeurs avec celles des radioactivités spécifiques moyennes du cholestérol libre (L) du contenu intestinal.

le cas des rats recevant de l'acétate, c'est la radioactivité spécifique du cholestérol libre du contenu intestinal qui excède celle du cholestérol estérifié des chylomicrons ; mais, cet excès est faible : 10 pour 100.

L'ensemble de ces faits argue en faveur d'une dilution isotopique consécutive à un apport soit de cholestérol estérifié, après l'estérification du cholestérol absorbé, soit de cholestérol libre avant l'estérification. L'estérification étant un processus qui s'effectue dans la paroi intestinale, ou plus probablement, comme certains l'ont suggéré, à la surface interne des cellules, la première dilution envisagée ne peut être qu'extracellulaire, la deuxième étant intracellulaire (32, 42, 79).

L'enrichissement des chylomicrons par du cholestérol estérifié de la lymphe expliquerait l'ensemble des observations qui viennent d'être rapportées. En effet, dans le cas de l'ingestion de cholestérol, la faible radioactivité spécifique du cholestérol estérifié de la lymphe rend compte de la dilution. Il en est de même, pour les rats recevant une perfusion d'acétate, bien que les variations observées après dilution ne puissent être que faibles. Dans le cas de l'injection sous-cutanée, le phénomène est inverse, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié de la lymphe étant plus élevée que celle du cholestérol libre du contenu intestinal. En faveur de la captation du cholestérol estérifié par les chylomicrons, après leur extrusion des cellules épithéliales, on rappellera que, lorsque des chylomicrons sont mélangés "in vitro" à du sérum, ceux-ci captent instantanément du cholestérol sérique libre et estérifié. Leur concentration s'accroît d'un facteur variant de 3 à 7 (22). Un phénomène du même type pourrait intervenir au moment où les particules de graisses libérées des cellules épithéliales sont déversées dans le milieu extracellulaire.

Pour expliquer la dilution isotopique, on peut aussi imaginer un apport de cholestérol libre intracellulaire avant l'estérification. Une interprétation de ce type a été proposée par Swell et coll. Les auteurs comparant, directement, la radioactivité spécifique du cholestérol du contenu intestinal à celle du cholestérol total du chyle (chylomicrons + lymphe) collecté durant 6 heures après l'ingestion de cholestérol 4 - ^{14}C, expliquent la différence observée entre les radioactivités spécifiques par une dilution de cholestérol de synthèse cellulaire (79). Dans nos expériences, un apport de cholestérol libre intracellulaire avant l'estérification ne pose pas de difficultés d'interprétation dans le cas où les rats ingèrent du cholestérol radioactif. Chez ceux-ci, le cholestérol de transfert d'origine sérique et celui de synthèse ne sont pas radioactifs. Par contre, les résultats fournis par les deux autres groupes se comprennent difficilement. On aurait pu penser que le cholestérol éliminé dans la lumière intestinale (excrétion et secrétion) représentait un échantillon homogène du mélange cellulaire constitué par le cholestérol de transfert d'origine sérique et par le cholestérol de synthèse. En d'autres termes, selon cette conception, en dehors de tout apport de cholestérol alimentaire, la radioactivité spécifique du cholestérol libre du contenu intestinal serait pratiquement égale à celle du cholestérol des cellules épithéliales. En conséquence, la réabsorption du cholestérol du contenu intestinal ne pourrait être suivie d'aucune dilution isotopique dans les cellules. Or, dans le cas des injections sous-cutanées, la dilution observée exige un apport de cholestérol radioactif qui ne peut être que du cholestérol de transfert d'origine sérique. Dans le cas des perfusions d'acétate, la faible dilution observée s'explique par un apport de cholestérol peu ou pas radioactif. De toute façon, cette interprétation implique une hétérogénéité de répartition du cholestérol de synthèse et de transfert dans les structures cellulaires qui fournissent cet apport et dans celles qui sont à l'origine de l'élimination du cholestérol dans la lumière intestinale.

En conclusion, à l'aide des seuls résultats obtenus dans ce travail, la captation par les chylomicrons de cholestérol estérifié du milieu extracellulaire fournit une explication qui ne soulève aucune difficulté, quel que soit le type de l'expérience entreprise. Par ailleurs, si cette captation est réelle, il n'y a aucune raison qu'elle se limite au seul cholestérol estérifié. Les résultats relatifs au cholestérol libre suggèrent aussi son existence.

3/ Origine du cholestérol libre des chylomicrons.

Par rapport à la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié des chylomicrons, suivant les conditions expérimentales, celle du cholestérol libre lui est supérieure (injection sous-cutanée), égale (perfusion) ou inférieure (absorption). Il y a donc, après une estérification partielle, un apport de cholestérol libre de radioactivité spécifique respectivement inférieure, égale et supérieure à celle du cholestérol estérifié des chylomicrons.

La captation de cholestérol libre par les chylomicrons dans le milieu extracellulaire fournit, encore, une explication plausible, applicable à chaque cas expérimental. Comme cette captation concerne probablement le cholestérol estérifié, pour expliquer la différence entre sa radioactivité spécifique et celle du cholestérol libre, la quantité de cholestérol libre captée doit être plus grande que celle de cholestérol estérifié. Le calcul le montre. Les pourcentages de cholestérol estérifié prove-

nant de la lymphe sont compris entre 20 et 40, alors que, pour le cholestérol libre, les valeurs varient de 50 à 75. On remarquera que, dans le cas où le processus de captation n'affecterait pas le cholestérol estérifié, il fournit, néanmoins, la seule explication possible en ce qui concerne le cholestérol libre.

4/ Origine du cholestérol de la lymphe.

Les expériences utilisant du cholestérol 4 - ^{14}C injecté par voie sous-cutanée montrent, d'une part, que du cholestérol sérique est transféré dans le milieu extracellulaire, et, d'autre part, qu'une estérification s'effectue dans ce milieu. Le rapport des radioactivités spécifiques du cholestérol estérifié et libre est de 1 dans la lymphe, il n'est que de 0,7 dans le sérum.

Dans les expériences où les rats ingèrent du cholestérol 4 - ^{14}C, la radioactivité spécifique du cholestérol libre de la lymphe égale le quart de celle du cholestérol estérifié des chylomicrons pendant les 16 premières heures, puis la moitié durant les 8 dernières. Ce fait pourrait s'expliquer par des transferts de cholestérol des chylomicrons dans la lymphe. Cette éventualité est peu vraisemblable. On a comparé les quantités et les radioactivités spécifiques du cholestérol de la lymphe et des chylomicrons de divers chyles thoraciques recueillis à 0°, puis gardés, 24 heures à la température ambiante ou à 37°. Aucune différence significative n'est appréciable. La présence de cholestérol radioactif dans la lymphe peut s'expliquer en admettant, d'une part, le mélange total ou partiel, dans les cellules, du cholestérol d'absorption et du cholestérol des structures, et, d'autre part, le transfert du cholestérol libre des cellules dans le milieu extracellulaire. Le premier fait est en accord avec les observations de Glover et coll. (39, 40, 42, 43, 44) ; le deuxième conduit à penser que les cellules épithéliales sont l'objet de transfert bidirectionnel de cholestérol entre elles et le milieu extracellulaire comme c'est le cas pour tous les tissus (15).

Le cholestérol libre de la lymphe correspond donc à un mélange permanent de cholestérol d'origine sérique et de cholestérol d'origine cellulaire.

5/ Mécanismes de l'absorption.

D'après les résultats acquis dans cette étude, la paroi intestinale serait le siège de nombreux processus (figure 10) :

a) Les transferts de cholestérol jouent un rôle essentiel. Ils s'effectuent, d'une part, entre les cellules épithéliales et le milieu extracellulaire, et vice versa , d'autre part, entre le contenu intestinal et les cellules, et vice versa. Le transfert entre le contenu intestinal et les cellules (voie 4) n'intervient que pour le seul cholestérol libre. On admettra qu'il en est de même pour tous les transferts (voies 1, 2, 3).

b) Les cellules épithéliales sont le siège d'une synthèse de cholestérol (voie 5). On sait que celui-ci est déversé dans le contenu intestinal (voie 3). Il n'y a pas de raison de penser qu'il ne soit pas, aussi, déversé dans le milieu extracellulaire (voie 2).

c) Dans le milieu extracellulaire, les chylomicrons s'enrichissent en cholestérol libre (voie 6) et, probablement aussi, en cholestérol estérifié (voie 7). La lymphe qui s'en écoule, est un mélange de cholestérol d'origine sérique et cellulaire.

d) Le contenu intestinal est capable tout aussi bien d'hydrolyser les esters de cholestérol que d'estérifier le cholestérol libre.

e) Le cholestérol absorbé est partiellement estérifié durant la traversée de la paroi intestinale. On admettra, conformément à ce qu'il a été dit plus haut, que ce processus s'effectue à l'interface cellule-milieu extracellulaire.

Remarquons tout d'abord, qu'à notre connaissance aucun argument ne permet de penser, à l'heure actuelle, qu'il existe des types cellulaires différenciés soit pour l'élimination, soit pour l'absorption. Une étude de Swell montre que l'absorption intestinale s'effectue sur toute la longueur de l'intestin grêle (77). On considèrera, jusqu'à preuve du contraire, qu'il en est de même en ce qui concerne l'élimination. Dans ces conditions, les cellules épithéliales présenteraient la particularité remarquable d'être le siège de 2 flux de cholestérol dirigés en sens contraire.

Les 2 flux de cholestérol pourraient s'expliquer par un même mécanisme de perméabilité du type de celui qui doit s'effectuer au niveau de tous les organes et qui aboutit à des transferts bidirectionnels ou échanges. Les résultats de Glover et coll. sont en faveur de cette conception. Dans la théorie élaborée par ces auteurs et par Favarger, les liaisons labiles entre le cholestérol (ou les stérols compétitifs) et les lipoprotéines du contenu intestinal, des membranes et des structures cellulaires, jouent un rôle prédominant (32, 42). Mais, on doit remarquer que, dans cette éventua-

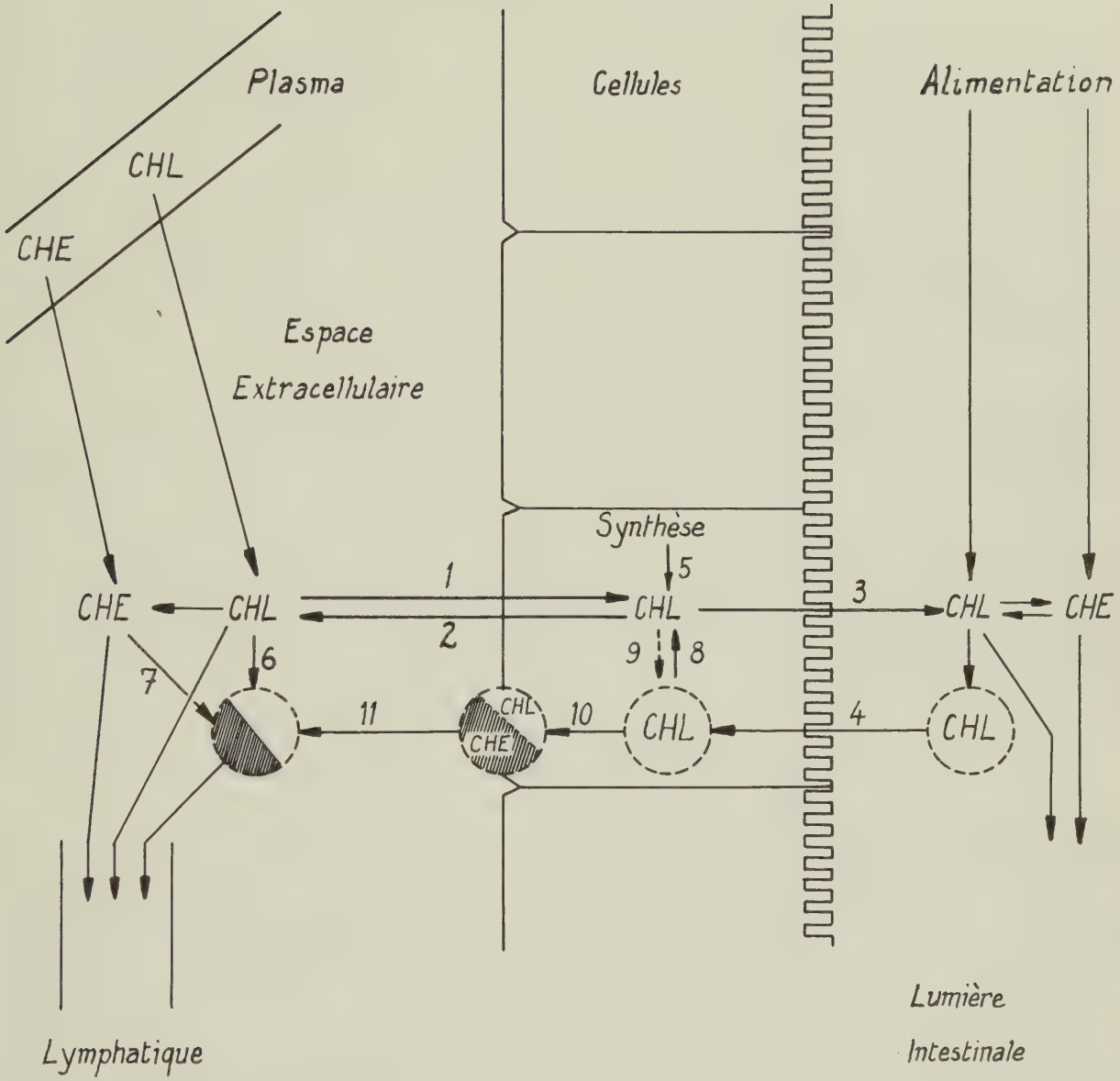

Figure 10 - Schéma des divers processus qui sont à l'origine du cholestérol de la lymphe et des chylomicrons (CHL : cholestérol libre ; CHE : cholestérol estérifié).

lité, le problème de la formation des chylomicrons reste entier. Si ces particules se formaient dans le milieu extracellulaire, leur cholestérol aurait la même radioactivité spécifique que celui de la lymphe, ce qui n'est pas le cas. De plus, le fait de mettre en évidence un enrichissement en cholestérol des chylomicrons dans le milieu extracellulaire implique leur existence préalable. Il faut, donc, admettre que ces particules graisseuses proviennent soit du contenu intestinal soit des cellules elles-mêmes. Comme aucun argument ne plaide en faveur de l'origine cellulaire, on interprètera les résultats de ce travail dans le cadre de la théorie de Frazer (34, 36).

Selon cette théorie à laquelle les études, faites au microscope électronique, apportent des arguments supplémentaires, l'absorption des lipides s'effectue sous forme de fines gouttelettes préfigurant les chylomicrons (61). Dans ce cas, l'absorption du cholestérol pourrait n'être qu'un épiphénomène à l'absorption des graisses. Grâce aux liaisons physico-chimiques dont la nature et le nombre règlent les proportions relatives du cholestérol dans ces particules, ces dernières assumeraient le rôle de transporteur de cholestérol du contenu intestinal dans les chylifères. Les interrelations entre les particules graisseuses et les constituants des divers milieux dans lesquels elles progressent, auraient un rôle fondamental. Dans les cellules, ces particules libèreraient du cholestérol (voie 8) et éventuellement en capteraient (voie 9). Au niveau de la membrane interne, le cholestérol libre serait partiellement estérifié. Dans le milieu extracellulaire, les chylomicrons capteraient du cholestérol libre et estérifié. Dans le sérum, enfin, le même phénomène s'effectuerait. En conclusion, la théorie particulaire de Frazer rend compte de nos résultats en admettant que les particules graisseuses soient l'objet de remaniements fonctions des divers milieux qu'elles traversent. Ce point de vue est, du reste, celui de Frazer lui-même (35).

Ainsi, les 2 flux de cholestérol dont les cellules épithéliales sont le siège, s'expliqueraient par 2 mécanismes distincts de perméabilité. L'un, d'un type classique, serait à l'origine de l'élimination du cholestérol dans le contenu intestinal (voies 1, 3), comme de la participation du cholestérol cellulaire à la formation de la lymphe (voie 2). L'autre, spécifique de la paroï intestinale, permettrait la progression des particules graisseuses absorbées (voies 4, 10, 11). La libération intracellulaire de cholestérol des particules lipidiques constitue une sorte de court-circuit (voie 8) qui explique l'apparition de cholestérol absorbé dans la lymphe, et qui implique qu'une partie du cholestérol absorbé soit éliminé, dans la lumière intestinale, sans participer à la constitution des chylomicrons issus des cellules fonctionnant à un niveau déterminé (voie 3). Cette conséquence explique, sans doute, qu'à notre connaissance aucun auteur n'ait signalé une absorption de cholestérol à 100 pour 100, quelle que soit la petitesse de la masse ingérée. On remarquera, enfin, que l'association des 2 processus : excrétion - absorption, constitue un cycle enteroplasmatique de cholestérol. Par ailleurs, l'absorption du cholestérol de secrétion montre qu'une fraction du cholestérol de synthèse, déversée en permanence dans le plasma, provient de l'intestin par cette voie indirecte.

6/ Remarques à propos des esters du cholestérol.

En accord ou non avec divers auteurs, du cholestérol estérifié est constamment isolé du contenu et de la paroi intestinale (9, 24, 25, 26, 43, 44). Il ne représente qu'une faible fraction du cholestérol total (respectivement 1/10 et 1/30).

Dans les expériences où l'on injecte du cholestérol par voie sous-cutanée et celles où l'on perfuse de l'acétate, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié du contenu intestinal égale, environ, le tiers de celle du cholestérol libre. La vitesse de la réaction d'équilibre entre le cholestérol libre et le cholestérol estérifié est donc faible. Lorsqu'on donne de l'oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C, on obtient pratiquement le même résultat que ci-dessus : le rapport de la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié à celui du cholestérol libre est de 0,5. Ceci montre que les esters isolés du contenu intestinal en fin d'expérience ne contiennent pas de l'oléate administré. En effet, si l'hydrolyse s'effectuait selon les seules règles des équilibres chimiques, la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié devrait être supérieure à celle du cholestérol libre.

Il faut, enfin, remarquer que, dans les expériences de substitution biliaire, la quantité de cholestérol estérifié dans les chylomicrons n'atteint, environ, que le quart de celle que l'on observe normalement. On serait tenté d'expliquer cette observation par un manque de cholestérolestérase d'origine pancréatique. Chez ces rats le suc pancréatique s'écoule, sans doute, mal, puisque la bile ne vient pas l'entraîner. On doit, aussi, rappeler que c'est dans le cadre de l'une des deux expériences de ce type que l'on a trouvé dans le contenu intestinal le plus haut rapport (0,8) de la radioactivité spécifique du cholestérol estérifié à celle du cholestérol libre.

Cet ensemble de faits montre à quel point l'étude de l'activité estérasique du contenu intestinal est un problème complexe. Cette activité est, sans doute, dépendante de facteurs physiologiques dont nous ignorons la nature.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Chez les rats à jeun, porteurs d'une fistule lymphatique, le chyle recueilli en 24 heures contient une dizaine, ou plus, de milligrammes de cholestérol. Pensant que le problème des origines de ce cholestérol est intimement lié à celui du mécanisme de son absorption intestinale, diverses expériences ont été entreprises pour déterminer ces origines et préciser ce mécanisme.

Des rats présentant une fistule lymphatique abdominale reçoivent, par tubage gastrique, 0,5 cm^3 d'acide oléique. Simultanément on leur administre soit du cholestérol 4 - ^{14}C par voie sous-cutanée pour marquer le cholestérol de transfert d'origine sérique, soit de l'acétate 1 - ^{14}C par perfusion continue pour mettre en évidence le cholestérol de synthèse, soit encore 0,5 mg de cholestérol 4 - ^{14}C ou d'oléate de cholestéryle 4 - ^{14}C par voie orale pour étudier l'absorption proprement dite. On détermine, d'une part, les quantités de cholestérol libre et estérifié des chylomicrons et de la lymphe, et, d'autre part, leur radioactivité spécifique. Les mêmes déterminations sont faites sur le sérum, le foie, la paroi et le contenu intestinal.

Les dosages montrent que, dans nos conditions expérimentales, le chyle de 24 heures contient 9 mg de cholestérol. Trois sont inclus dans la lymphe, six dans les chylomicrons. Dans ces particules il y a autant de cholestérol libre que de cholestérol estérifié. Dans la lymphe, la quantité de cholestérol estérifié peut excéder celle de cholestérol libre ou l'égaler. De la paroi et du contenu intestinal, on isole constamment du cholestérol estérifié. Celui-ci représente respectivement le 1/30 et le 1/10 du cholestérol total.

La nécessité d'interpréter, en des termes communs, les résultats relatifs aux radioactivités spécifiques fournies par les différentes expériences, permet de réduire le nombre des interprétations possibles des cas particuliers. On aboutit, ainsi, aux conclusions suivantes :

- Les chylomicrons sont composés, d'une part de cholestérol provenant du contenu intestinal quelles qu'en soient les origines (excrétion, secrétion, alimentation). Le cholestérol absorbé l'est sous la forme libre, il est partiellement estérifié après son absorption ; ces faits sont en accord avec les résultats d'autres auteurs. D'autre part, les chylomicrons captent du cholestérol libre et estérifié contenus dans le milieu extracellulaire. La présence de 50 à 75 pour cent du cholestérol libre des chylomicrons s'explique par un tel processus ; pour le cholestérol estérifié, ces pourcentages sont compris entre 20 et 40.

- Le cholestérol de la lymphe, issue du milieu extracellulaire, a une origine mixte : cellulaire et sérique.

Ces conclusions trouvent une place dans le cadre de la théorie particulaire de Frazer en admettant que les particules lipidiques qui progressent de la lumière intestinale jusque dans les chylifères soient l'objet de remaniements fonctions des divers milieux qu'elles traversent. Alors que, dans le milieu extracellulaire, ces particules captent du cholestérol, dans les cellules épithéliales elles en libèrent. Ainsi, les cellules contiennent, indépendamment du cholestérol des particules en cours de migration, du cholestérol de transfert d'origine sérique, du cholestérol de synthèse "in situ" et du cholestérol d'absorption. Par ailleurs, la libération intracellulaire de cholestérol des particules permet d'expliquer l'apparition de cholestérol absorbé dans la lymphe.

BIBLIOGRAPHIE

1 - BALDIN M., FAVARGER P. - Helvet. Physiol. Acta, 1959, 17, 349.

2 - BERGSTROM S. - The biosynthesis of terpenes and sterols. Ciba Foundation, 1959, 185.

3 - BIGGS M.W., FRIEDMAN M., BYERS S.O. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1951, 78, 641.

4 - BIGGS M.W., LEMMON R.M., PIERCE F.T. - Arch. Biochem. Biophys., 1954, 51, 155.

5 - BIGGS M.W. - L'utilisation de l'Energie Atomique à des fins pacifiques. Nations Unies, 1955, 12, 602.

6 - BOLLMAN J.L., CAIN J.C., GRINDLEY J.H. - J. Lab. Clin. Med., 1948, 33, 1349.

7 - BOLLMAN J.L., FLOCK E.V. - Amer. J. Physiol., 1951, 164, 480.

8 - BORGSTROM B., LINDHE B., WLODAWER P. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1958, 99, 365.

9 - BORGSTROM B. - J. Clin. Invest., 1960, 39, 809.

10 - BURSTEIN M., SAMAILLE J. - Comptes rendus, 1955, 241, 664.

11 - BYERS S.O., FRIEDMAN M. - Amer. J. Physiol., 1954, 179, 79.

12 - BYERS S.O., FRIEDMAN M. - Amer. J. Physiol., 1955, 182, 69.

13 - CAMINADE R. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1922, 4, 601.

14 - CHAIKOFF I.L., BLOOM B., SIPERSTEIN M.D., KIYASU J.Y., REINHARDT W.O., DAUBEN W.G., EASTHAM J.F. - J. Biol. Chem., 1952, 194, 407.

15 - CHEVALLIER F. - Arch. Sc. Physiol., 1956, 10, 249.

16 - CHEVALLIER F. - Arch. Sc. Physiol., 1956, 10, 321.

17 - CHEVALLIER F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 611.

18 - CHEVALLIER F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 623.

19 - CHEVALLIER F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 633.

20 - CHEVALLIER F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 643.

21 - CHEVALLIER F., MAURICE J.P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1961, 43, 827.

22 - CHEVALLIER F., PHILIPPOT J. - Bull. Soc. Chim. Biol., sous presse.

23 - CLEMENT G., CLEMENT J., LOUEDEC A. - Arch. Sc. Physiol., 1954, 8, 233.

24 - CLEMENT G., CLEMENT J. - Compte Rendu Soc. Biol., 1956, 150, 336.

25 - CLEMENT G., CLEMENT J., RAULIN J. - Arch. Sc. Physiol., 1957, 11, 101.

26 - CLEMENT J., COUREL-PLOT E. - Arch. Sc. Physiol., 1961, 15, 213.

27 - COOK R.P., KLIMAN A., FIESER L. - Arch. Biochem., 1954, 52, 439.

28 - COOK R.P. - In cholestérol, Acad. Press, 1958.

29 - DAM H., BRUN G.C. - Biochem., Z, 1935, 276, 274.

30 - DASKALAKIS E.G., CHAIKOFF I.L. - Arch. Biochem. Biophys., 1955, 58, 373.

31 - FAVARGER P., METZGER E.F. - Helv. Chem. Acta, 1952, 35, 1811.

32 - FAVARGER P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, 1 023.

33 - FONTAINE T., Le BRETON E., PANTALEON J. - C.R. Soc. Biol., 1943, 137, 611.

34 - FRAZER A.C., SCHULMAN J.H., STEWART H.C. - J. Physiol., 1944, 103, 306.

35 - FRAZER A.C. - In Biochemical problems of lipids by Popjak G. and Le Breton E. Butterworths Scient. Public., 1956, p. 364.

36 - FRAZER A.C. - Brit. Med. Bull., 1958, 14, 212.

37 - FREDRICKSON D.S., Mc COLLESTER D.L., HAVEL R.J., ONO K. - In Chemistry of lipids as related to atherosclerosis. Page I.H., 1958.

38 - FRIEDMAN M., BYERS S.O., SHIBATA E. - J. Exper. Med., 1953, 98, 107.

39 - GLOVER J., STAINER D.W. - Proc. Biochem. Soc., 1956, 64, 15 P.

40 - GLOVER J., LEAT W.M.F., MORTON R.A. - Biochem. J., 1957, 66, 214.

41 - GLOVER J., GREEN C. - Bioch. J., 1957, 67, 308.

42 - GLOVER J., MORTON R.A. - Brit. Med. Bull., 1958, 14, 226.

43 - GLOVER J., STAINER D.W. - Biochem. J., 1959, 72, 79.

44 - GLOVER J., GREEN C., STAINER D.W. - Biochem. J., 1959, 72, 82.

45 - GOULD R.G. - Circulation, 1954, 10, 589.

46 - GOULD R.G. - Trans. N.Y. Acad. Sci., 1955, 18, 129.

47 - HAROLD F.M., CHAPMAN D.A., CHAIKOFF I.L. - J. Biol. Chem., 1957, 224, 609.

48 - HAVEL R.J., FREDRICKSON D.S. - J. Clin. Invest., 1956, 35, 1 025.

49 - HERNANDEZ H.H., PETERSON D.W., CHAIKOFF I.L., DAUBEN W.G. - Proc. Soc. Exptl. Biol., Med., 1953, 83, 498.

50 - HERNANDEZ H.H., CHAIKOFF I.G., KIYASU J.Y. - Amer. J. Physiol., 1955, 181, 523.

51 - HILLYARD L.A., CORNELIUS C.E., CHAIKOFF I.L. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 2 240.

52 - HIRSCH J., AHRENS E.H. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 311.

53 - KIM K.S., IVY A.C. - Amer. J. Physiol., 1952, 171, 302.

54 - KLEIN W. - Z. Physiol. Chem., 1939, 259, 268.

55 - LAURELL C.B. - Acta Physiol. Scand., 1954, 30, 289.

56 - Le BRETON E., PANTALEON J. - Arch. Sc. Physiol., 1947, 1, 199.

57 - LIN T.M., KARVINEN E., IVY A.C. - Amer. J. Physiol., 1957, 190, 214.

58 - MUELLER J.H. - J. Biol. Chem., 1916, 27, 463.

59 - PAGE I.H., RUDY H. - Biochem. Ztschr., 1930, 220, 304.

60 - PAGE I.H., LEWIS L.A., PHAHL G. - Circulation Res., 1953, 1, 87.

61 - PALAY S.L., KARLIN L. - J. Biophys. Biochem. Cytol., 1959, 5, 373.

62 - PILH A. - Acta Physiol. Scand., 1955, 34, 183.

63 - PILH A. - Acta Physiol. Scand., 1955, 34, 197.

64 - PIHL A. - Acta Physiol. Scand., 1955, 34, 206.

65 - POPJAK G. - Biochem. J., 1946, 40, 608.

66 - ROTH M., FAVARGER P. - Helv. Physiol. Acta, 1955, 13, 249.

67 - SCHOENHEIMER R., DAM H. - Hoppe Seyle Z., 1933, 215, 59.

68 - SESKIND C.R., SCHROEDER M.T., RASMUSSEN R., WISSLER R.W. - Federation Proc., 1957, 16, 371.

69 - SIPERSTEIN M.D., CHAIKOFF I.L., REINHARDT W.O. - J. Biol. Chem., 1952, 198, 111.

70 - SPERRY W.M., WEBB M. - J. Biol. Chem., 1950, 187, 97.

71 - STAMLER J., PICK R., KATZ L.N. - Federation Proc., 1957, 16, 123.

72 - SWELL L., TREADWELL C.R. - J. Biol. Chem., 1950, 182, 479.

73 - SWELL L., BYRON J.E., TREADWELL C.R. - J. Biol. Chem., 1950, 186, 543.

74 - SWELL L., FLICK D.F., FIELD H., TREADWELL C.R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1953, 84, 428.

75 - SWELL L., BOITER T.A., FIELD H. (Jr.), TREADWELL C.R. - Amer. J. Physiol., 1955, 180, 129.

76 - SWELL L., TROUT E.C., HOPPER J.R., FIELD H. (Jr.) TREADWELL C.R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1958, 98, 174.

77 - SWELL L., TROUT E.C., HOPPER J.R., FIELD H. (Jr) TREADWELL C.R. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 49.

78 - SWELL L., TROUT E.C., FIELD H. (Jr.) TREADWELL C.R. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 2 286.

79 - SWELL L., TROUT E.C., HOPPER J.R., FIELD H. (Jr.) TREADWELL C.R. - Ann. N.Y. Acad. Sc., 1959, 72, 813.

80 - SWELL L., FIELD H. (Jr.) TREADWELL C.R. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1960, 103, 263.

81 - TSUNG-MIN L., KARVINEN E., IVY A.C. - Amer. J. Physiol., 1954, 179, 680.

82 - VAHOUNY G.V., FAWAL I., TREADWELL C.R. - Amer. J. Physiol., 1957, 188, 342.

83 - VAHOUNY G.V., TREADWELL C.R. - Amer. J. Physiol., 1957, 191, 179.

84 - VAHOUNY G.V., TREADWELL C.R. - Amer. J. Physiol., 1958, 195, 516.

85 - VAHOUNY G.V., TREADWELL C.R. - Amer. J. Physiol., 1959, 196, 881.

86 - WAIFAN E., HEUKIN G., RICE L.I., MARX W. - Arch. Biochem. Biophys., 1952, 38, 187.

87 - WILSON J.D., SIPERSTEIN M.D. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1958, 99, 113.

88 - WOLFF R., BRIGON J.J. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1956, 38, 99.

TABLE DES MATIÈRES

		Pages
INTRODUCTION		3
CHAPITRE I	- L'absorption intestinale du cholestérol	5
1)	Etude critique des méthodes	5
2)	Résultats et facteurs influençant l'absorption	6
3)	Mécanisme de l'absorption	7
CHAPITRE II	- Méthodes	9
1)	Protocole expérimental	9
2)	Techniques physiologiques	9
3)	Dosage et mesure de la radioactivité spécifique du cholestérol	12
4)	Préparation de l'oléate de cholestéryle	14
CHAPITRE III	- Résultats	15
1)	Résultats pondéraux	25
2)	Radioactivités spécifiques	25
CHAPITRE IV	- Discussion	37
1)	Forme sous laquelle le cholestérol est absorbé	37
2)	Origine du cholestérol estérifié des chylomicrons	37
3)	Origine du cholestérol libre des chylomicrons	39
4)	Origine du cholestérol de la lymphe	40
5)	Mécanisme de l'absorption	40
6)	Remarques à propos des esters du cholestérol	42
RESUME ET CONCLUSIONS		43
BIBLIOGRAPHIE		45
TABLE DES MATIERES		49

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

METABOLISME LIPIDIQUE DU TISSU ADIQUEUX

Vu et approuvé :
Paris, le 9 Novembre 1962
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie
de Paris,
Jean ROCHE

IMP. LOUIS-JEAN – GAP

Dépôt légal no 72 – 1963